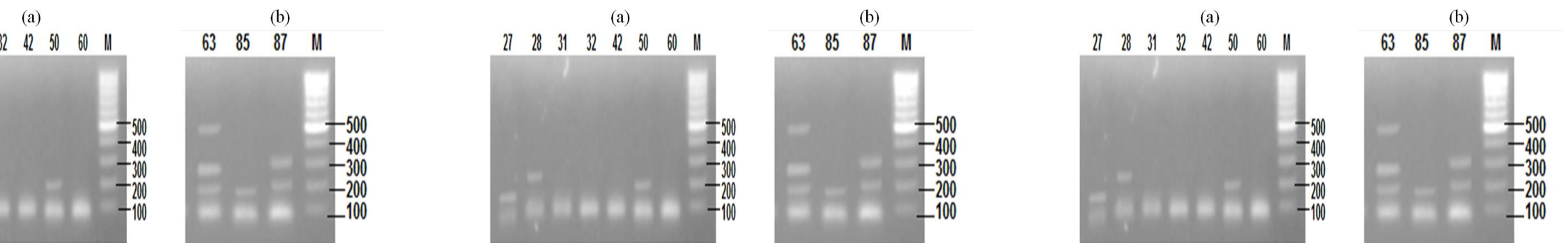


PENGENALAN DIAGNOSIS MALARIA

Sahrir Sillehu
Tri Niswati Utami



Penerbit:
Forum Ilmiah Kesehatan (FORIKES)
2018

PENGENALAN DIAGNOSIS MALARIA

Pengarang:

- 1) Sahrir Sillehu
- 2) Tri Niswati Utami

Penerbit:

Forum Ilmiah Kesehatan (FORIKES)
2018

PENGENALAN DIAGNOSIS MALARIA

Pengarang:

- 1) Sahrir Sillehu
- 2) Tri Niswati Utami

ISBN 978-623-7307-69-3

Diterbitkan oleh:

Forum Ilmiah Kesehatan (FORIKES)
2018

Jalan Cemara 25, RT. 001, RW. 002 Dare, Desa Sukorejo,
Kecamatan Sukorejo,
Ponorogo, Jawa Timur
E-mail: forikes@gmail.com
Telepon: 082142259360

Editor:

Byba Melda Suhita

Desain Sampul:

Suparji

Edisi I

Cetakan I

Hak cipta dilindungi oleh Undang-Undang
Dilarang mengutip, memperbanyak dan menerjemahkan
sebagian atau seluruh isi buku ini tanpa izin tertulis dari
penerbit.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Kuasa karena dengan limpahan rahmat-Nya buku ini dapat terselesaikan dengan lancar. Buku ini dikhususkan bagi para tenaga kesehatan dan mahasiswa terkait yaang membutuhkan pengetahuan lebih mendalam tentang malaria. Diharapkan buku ini dapat menjadi sumber belajar yang baik dalam rangka mewujudkan terbentuknya insan profesi kesehatan yang kompeten.

Terimakasih disampaikan kepada Forum Ilmiah Kesehatan (FORIKES) yang telah bekerjasam dalam memberikan pendampingan penyusunan buku ini sampai dengan tahap penerbitan.

Semoga buku ini benar-benar bermanfaat seperti yang diharapkan, masukan yang bersifat membangun sangat kami harapkan untuk perbaikan edisi selanjutnya, terimakasih.

Ambon, 2018

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman judul I (i)

Halaman judul II (ii)

Kata Pengantar (iii)

Daftar isi (iv)

BAB 1 PENDAHULUAN

A. Insiden Kasus Malaria di Beberapa Negara	1
B. Malaria di Propinsi Maluku	2
C. Uraian tentang Buku	4

BAB 2 MENGENAL PENYAKIT MALARIA DAN DIAGNOSIS MALARIA

A. Penyakit Malaria	6
B. Situasi Malaria Global dan Propinsi Maluku	7
C. Siklus Hidup Plasmodium	10
D. Diagnosa Malaria	15
1. Pemeriksaan Malaria dengan RDT	16
2. Pemeriksaan Malaria dengan Cara Mikroskopis	17
3. Pemeriksaan Malaria dengan Menggunakan <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	18

BAB 3 PROSES INFEKSI MALARIA

A. Infeksi Plasmodium Falcifarum	19
B. Patogenesis	22
C. Manifestasi Klinik	23
D. Plasmodium Falcifarum Merozoite Surface Protein (PfMSP-1)	27
E. Fungsi Genetik MSP-1	31
F. Struktur Genetik MSP-1	32
G. Polimorfisme Genetik	33

H. Perbedaan Poliformisme Genetik PfMSP-1 berdasarkan Letak Geografis	34
BAB 4 KARAKTERISTIK MASYARAKAT DAN HUBUNGANNYA DENGAN PENYAKIT MALARIA	
A. Masyarakat Tertutup	41
B. Masyarakat Terbuka	43
C. Riwayat Berpergian	44
D. Riwayat Sakit Malaria	45
E. Riwayat Pengobatan Malaria	47
F. Pembesaran Limpa	48
BAB 5 VARIASI STRUKTUR GENETIK (POLIMORFISME GENETIK PfMSP-1)	
A. Polimorfisme	52
B. Deskripsi Malaria di Kabupaten Buru	55
C. Faktor yang Berhubungan dengan Polimorfisme Genetik	58
BAB 6 PROSEDUR PEMERIKSAAN PCR	
A. Prosedur Pengumpulan Data	64
B. Instrumen yang digunakan	64
C. Alur Pengumpulan Data	66
D. Identifikasi Spesies <i>Plasmodium</i> menggunakan RDT, Mikroskopis, <i>Single Step PCR</i> dan Diversitas Genetika PfMSP-1	68
1. Identifikasi spesies <i>Plasmodium</i> menggunakan RDT	68
2. Identifikasi spesies <i>Plasmodium</i> menggunakan mikroskopis.....	69
3. Identifikasi <i>P. falciparum</i> menggunakan <i>single step PCR</i>	70
4. Diversitas genetika PfMSP-1 Menggunakan <i>nested PCR</i>	76

BAB 7 TEMUAN POLIMORFISME PADA MASYARAKAT TERTUTUP DAN TERBUKA

A. Karakteristik Masyarakat Tertutup dan Terbuka	79
1. Umur	80
2. Jenis kelamin	84
3. Jenis pekerjaan	85
B. Hasil Identifikasi spesies <i>plasmodium</i> dengan <i>Rapid Diagnostic Test</i> (RDT)	86
C. Hasil Identifikasi spesies <i>Plasmodium</i> dengan Menggunakan Mikroskopis	88
D. Identifikasi Spesies <i>Plasmodium</i> dengan menggunakan <i>single step</i> PCR	89
E. Analisis Hubungan Polimorfisme PfMSP-1 alel K1, MAD20 dan RO33 Berdasarkan Riwayat Bepergian	90
F. Analisis Hubungan Polimorfisme PfMSP-1 alel K1, MAD20 dan RO33 Berdasarkan Riwayat Sakit Malaria	93
G. Analisis Hubungan Polimorfisme PfMSP-1 alel K1, MAD20 dan RO33 Berdasarkan Riwayat Minum Obat Anti Malaria (OAM)	96
H. Analisis Hubungan Polimorfisme PfMSP-1 alel K1, MAD20 dan RO33 Berdasarkan Pembesaran Limpa (<i>Splenomegali</i>)	99
I. Analisis Perbedaan Polimorfisme Genetika PfMSP-1 alel K1, MAD20 dan RO33 dengan metode <i>nested</i> PCR menggunakan 3 Pasang Primer yaitu K1a, K1b, MAD20a, MAD20b, RO33a dan RO33b.....	101

J. Analisis Polimorfisme Genetika PfMSP-1 Pada Masyarakat Tertutup dan Terbuka ...	104
K. Analisis Faktor yang Berpengaruh terhadap Polimorfisme	111
L. Temuan baru	112
 BAB 8 PENATALAKSANAAN MALARIA	
A. Pengobatan	114
B. Komplikasi	115
C. Pencegahan Malaria	116
 DAFTAR PUSTAKA	 117

BAB 1

PENDAHULUAN

A. Prevalensi Kasus Malaria di Beberapa Negara

Malaria merupakan penyakit menular yang sangat dominan di daerah tropis dan sub-tropis dan dapat menimbulkan kematian lebih dari jutaan manusia setiap tahun. Berdasarkan data WHO (2015) ditemukan 214 juta kasus baru malaria di seluruh dunia dengan kisaran 149 juta sampai dengan 303 juta kasus. Daerah Afrika sebesar 88%, Asia Tenggara sebesar 10% dan daerah Timur Tengah sebesar 2%. Tahun 2015, ditemukan 438. 000 kematian akibat malaria dengan kisaran 236.000 sampai 438.000 kematian di seluruh dunia. Kematian tertinggi ditemukan di Afrika sebesar 90%, Asia Tenggara sebesar 7%, Timur Tengah sebesar 2%.

Tahun 2000 hingga 2015, rerata kejadian malaria secara global sebesar 37% dan 42% di Afrika. Periode yang sama, rerata kematian malaria sebesar 60% secara global dan 66% di daerah Afrika. Angka kejadian malaria terjadi perbedaan terutama pada negara yang memiliki program pemberantasan malaria. Tahun 2000 angka kematian akibat infeksi malaria terjadi penurunan sebesar 72% Amerika, 65% daerah pasifik barat, 64% pada daerah Timur Mediterania, 49% di Asia Tenggara. Pertama kali, Benua Eropa melaporkan kasus *zero* malaria pada tahun 2015. Kasus malaria pada anak dibawah usia 5 tahun sebesar 306.000 secara global sebesar 292.000. Periode tahun 2000 dan 2015 kematian pada anak sebesar 65% secara global dan 71% di Afrika.

Malaria masih merupakan masalah kesehatan masyarakat di tingkat global, termasuk Indonesia. Kasus angka kejadian malaria yang cenderung menurun, namun

sebagian besar wilayah di Indonesia masih endemis malaria, terutama di wilayah Papua, Papua Barat, Maluku, Maluku Utara dan NTT. Tahun 2015 kasus positif malaria mencapai 209.413, kasus ini mengalami penurunan dari 465.764 kasus pada tahun 2010. Kementerian kesehatan tengah melakukan percepatan pencapaian bebas malaria pada daerah dengan kasus kejadian malaria tinggi (Kemenkes, 2015).

Perkembangan program malaria di Provinsi Maluku sejak tahun 2011 hingga 2014, kasus penderita malaria per 1000 penduduk yang dinyatakan positif malaria sebanyak 13,85% pada tahun 2011, *Annual Blood Examination Rate* (ABER) 2,37%, *Slide Parasite Rate* (SPR) 34,48%, *Annual Parasite Incidence* (API) 8,19%. Tahun 2012 kasus positif adalah 16,690%, ABER 2,62%, SPR 37,64%, API 9,86%. Tahun 2013 kasus positif adalah 16,508%, ABER 3,32%, SPR 29,34%, API 9,76%. Tahun 2014 kasus positif 13,307%, ABER 3,76%, SPR 21,50%, API 8,10%. Kabupaten Buru Selatan tahun 2011 ditemukan jumlah kasus positif malaria sebanyak 477, ABER 0,91%, SPR 72,49% dan API 6,63%. Tahun 2012 jumlah kasus positif adalah 208, ABER 0,53%, SPR 54,02%, API 2,89%. Tahun 2013 jumlah kasus positif 361, ABER 0,69%, SPR 71,91% API 5,01%. Tahun 2014 jumlah kasus positif adalah 494, ABER 1,12%, SPR 60,91% dan API 6,86% (Dinkes Kab. Buru Selatan, 2015).

B. Malaria di Propinsi Maluku

Kabupaten Buru Selatan terdapat masyarakat tertutup dan masyarakat terbuka. Masyarakat tertutup adalah masyarakat yang tinggal di daerah pedalaman yang memiliki keterbatasan sarana maupun prasarana. Kehidupan masyarakat ini masih tradisional dibandingkan

dengan kehidupan masyarakat terbuka, serta kehidupan kesehariannya bergantung pada alam sekitarnya atau hidup secara vegetatif. Apabila ada anggota keluarga mengalami sakit malaria, mereka menggunakan obat secara tradisional dari ramuan dedaunan alami yang ada di sekitarnya (Latuconsina, 2013). Masyarakat terbuka adalah masyarakat yang sebagian besar mempunyai orientasi nilai budaya yang terarah kepada kehidupan dalam peradaban masa kini. Umumnya masyarakat terbuka tinggal di daerah perkotaan, sehingga disebut masyarakat kota (Kartasasmita, 1997).

Polimorfisme genetika dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu: penggunaan obat anti malaria yang tidak teratur menyebabkan terjadinya resistensi parasit terhadap obat, mobilitas atau migrasi penduduk dari daerah endemik malaria ke daerah non endemik memiliki risiko terjadinya penularan malaria, penduduk yang datang dan berpergian selama kurun waktu tertentu ke dan dari daerah endemis malaria, memiliki potensi tertular malaria. (Depkes RI, 1999; Jordan *et al.*, 2001; Weraman, 2013).

Plasmodium falciparum merozoit surface protein-1 (PfMSP-1) merupakan protein yang terdapat pada permukaan stadium merozoit dari *P. falciparum*. MSP-1 memiliki tiga tipe alel yaitu, K1, MAD20 dan RO33, tetapi frekuensi genotipe tersebut berbeda berdasarkan wilayah geografis, walaupun hanya desa yang berdekatan (Arwati, 2015). MSP-1 merupakan protein yang digunakan saat invasi ke dalam eritrosit setelah merozoit masuk dan menetap di dalam eritrosit. MSP-1 selain itu, merupakan kandidat vaksin malaria. MSP-1 mewakili proses dari evolusi parasit yang banyak diteliti dan digunakan untuk mempelajari polimorfisme genetika parasit. Penelitian tentang PfMSP-1 alel K1 pada malaria

telah banyak dilakukan, antara lain di Kabupaten Pacitan (Arwati *et al.*, 2010) yaitu pada malaria import dan indigenus, di Sumatera Barat kepulauan mentawai (Irawati *et al.*, 2009) pada daerah pegunungan dan dataran rendah, dan di Sumatera Selatan (Handayani *et al.*, 2015).

C. Uraian tentang Buku

Buku ini fokus mengulas pada polimorfisme genetika PfMSP-1 mengacu pada kajian segi tiga epidemiologi yang meliputi *Host*, *Agent* dan *Environment*. Model epidemiologi klasik tentang kesehatan dan penyakit yang menyebutkan adanya hubungan yang dinamik berdasarkan waktu, orang dengan lingkungan serta tempat dengan *agent* yang saling mempengaruhi, selengkapny dapat dikembangkan model interaksi yang dinamik antara tekanan proses evolusi, ekologi terhadap hospes (manusia) yang saling berhubungan

Dalam penelitian ini dipelajari hubungan antara hospes dan parasit pada masyarakat tertutup dan terbuka dari sisi parasit berdasarkan polimorfisme PfMSP-1. Interaksi antara hospes dan agen dapat sangat berlainan pada keadaan yang berbeda. Perbedaan ini dapat dipengaruhi oleh tekanan ekologi, perlakuan medis (pengobatan), dan juga tekanan evolusi dan perilaku hospes. Pengaruh tekanan ekologi misalnya pembukaan lahan pertanian, pembangunan jalan dan penggundulan hutan (*deforestation*).

Mobilitas penduduk ke daerah endemis malaria menyebabkan manusia mengalami paparan parasit secara berulang dari berbagai parasit dengan genetika yang berbeda. Paparan patogen yang semakin besar, mengakibatkan patogen akan berusaha menghindari dari sistem imun. Parasit berupaya mempertahankan hidupnya

dengan cara menghindar dari sistem imun hospes, yaitu dengan merubah dirinya secara genetika melalui suatu proses evolusi (Confalanieri *et al.*, 2014).

Penelitian mengenai polimorfisme genetika PfMSP-1 yang merupakan representatif dari proses evolusi parasit. Pada masyarakat tertutup, kemampuan adaptasi *Plasmodium falciparum* di dalam tubuh hospes adalah merupakan suatu sentral keberhasilan di bawah proses evolusi (*evolutionary process*). Tidak ada intervensi program tentunya memberikan dampak bahwa parasit tidak mendapatkan tekanan, sehingga parasit yang berada di dalam tubuh hospes tidak perlu untuk melakukan mekanisme perlawanan terhadap tuan rumah. Pada masyarakat ini tidak pernah melakukan berpergian keluar daerah, tidak berupaya kontak dengan dunia luar, kehidupan tradisional dan kehidupan klasik dan vegetatif, serta upaya pencarian pelayanan kesehatan sudah cukup dengan pengobatan tradisional (*seeking behavior*). Oleh karena itu perlu dilakukan, penelitian polimorfisme genetika PfMSP-1 pada masyarakat tertutup dan masyarakat terbuka untuk mengetahui dinamika interaksi antara parasit dan hospes pada kedua kelompok masyarakat tersebut (Confalanieri *et al.*, 2014).

BAB 2

MENGENAL PENYAKIT MALARIA DAN DIAGNOSIS MALARIA

2.1 Penyakit Malaria

Malaria disebabkan oleh protozoa dari genus *Plasmodium*, ditemukan lima jenis spesies *plasmodium* yang menyerang manusia adalah *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* dan *P. knowlesi*. Parasit *P. falciparum*, *P. malariae* dan *P. ovale* menyerang eritrosit sedangkan *P. vivax* menyerang retikulosit dan eritrosit. Malaria ditularkan melalui perantara nyamuk *Anopheles*. Nyamuk betina pada waktu terinfeksi menghisap darah manusia, pada saat tersebut nyamuk memasukkan stadium sporosoit, setelah sporosoit masuk mengikuti aliran darah sekitar 10 menit sampai satu jam, kemudian menginfeksi sel hati dan berkembang menjadi trofosoit menjadi hipnosoit yang bersifat dorman didalam sel hati sampai beberapa bulan atau beberapa tahun (Guara *et al.*, 2009).

Stadium hipnosoit merupakan karakteristik dari *P. vivax* karena tidak dimiliki *Plasmodium* lain. Skison matang mengandung beribu-ribu merozoit. Skison ini kemudian pecah dan mengeluarkan merozoit dan merozoit menginfeksi eritrosit, didalam eritrosit parasit berkembang membentuk trofosoit, skison dan gametosit. Nyamuk *Anopheles* apabila menghisap darah manusia yang terinfeksi maka akan menghisap darah yang mengandung gametosit untuk ditularkan kepada orang lain. Stadium hipnosoit akan aktif berkembang biak kembali dan mengakibatkan kekambuhan (*relaps*). Pada penderita *vivax* yang sudah sembuh (Faurst *et al.*, 1970). Infeksi *P. falciparum* merupakan malaria maligna yang tersebar di daerah hampir tiga juta penduduk di 95 negara di daerah

beriklim tropis dan sub-tropis di Amerika, Afrika dan Asia (Guara *et al.*, 2009).

Walaupun mudah menular melalui gigitan nyamuk, malaria bisa sembuh secara total bila ditangani dengan tepat. Namun jika tidak ditangani, penyakit ini bisa berakibat fatal dari menyebabkan anemia berat, gagal ginjal, hingga kematian.

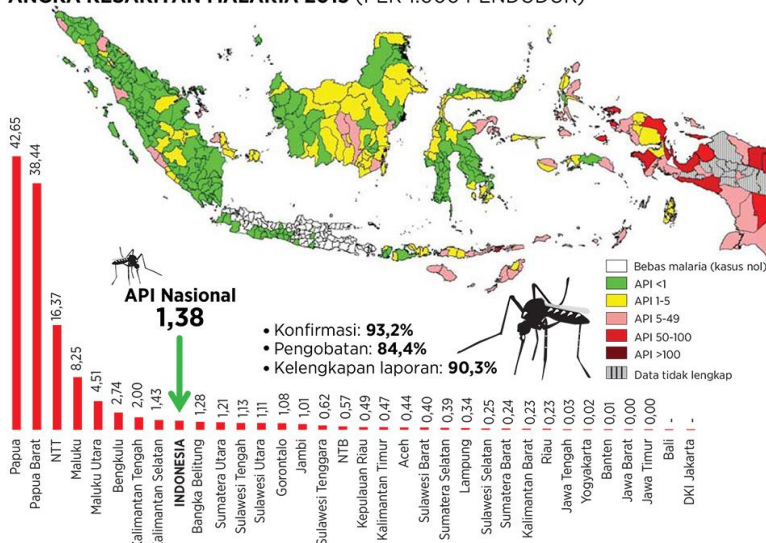
B. Situasi Malaria Global, Indonesia dan Provinsi Maluku

Malaria merupakan penyakit infeksi parasit yang telah lama dikenal. Malaria sampai saat ini merupakan masalah kesehatan secara global. Beberapa provinsi di Indonesia masih banyak yang menderita malaria, terutama di wilayah timur Indonesia, yaitu Papua dan Papua Barat. Penduduk dari 99 negara di dunia diperkirakan 3,3 milyar berisiko terinfeksi malaria dan menyebabkan sekitar 584 ribu kematian penduduk dunia pada tahun 2013 (WHO, 2014). Di Negara Afrika risiko tertular malaria sebanyak 81% kasus, diperkirakan 91% kasus malaria menyebabkan kematian pada anak usia dibawah 5 tahun dan wanita hamil (WHO, 2013).

Malaria di Indonesia merupakan salah satu indikator dari target *Millenium Development Goals* (MDGs). Insiden malaria tahun 2015 ditargetkan untuk dihentikan penyebaran dan pengurangan terhadap kemungkinan terjadinya kasus baru, hal ini dilihat dari indikator penurunan angka kesakitan dan angka kematian akibat malaria. *Global Malaria Programme* (GMP) menyatakan bahwa malaria merupakan penyakit yang harus dilakukan pengamatan secara terus-menerus, monitoring dan evaluasi serta diperlukan formulasi kebijakan dan strategi yang tepat (Depkes, 2010).

Tahun 2012 jumlah kasus malaria di Indonesia dilaporkan 417.000 (Kemenkes, 2013). Stratifikasi endemisitas wilayah Indonesia berdasarkan *Annual Parasite Incidence* (API) digolongkan menjadi; 1) Endemisitas tinggi dengan $API > 5$ per 1000 penduduk; 2) Endemisitas sedang adalah API berkisar antara $1 - <5$ per 1000 penduduk; 3) Endemisitas rendah adalah API $0 - 1$ per 100 penduduk dan daerah non Endemis adalah daerah yang tidak terdapat penularan malaria (daerah bebas malaria) $API = 0$. *Annual Parasite Incidence* pada tahun 2012 adalah 1.69/1000 penduduk (Kemenkes, 2013) dan menurun menjadi 1.38/1000 penduduk pada tahun 2013, tetapi di daerah endemis tinggi seperti Provinsi Maluku API masih diatas angka nasional yaitu 8.25%. Sedangkan untuk Kabupaten Buru Selatan *Annual Parasite Inciden* (API) adalah 8%, masih diatas angka nasional. Penjelasannya dapat dilihat pada gambar 2.1 berikut ini:

ANGKA KESAKITAN MALARIA 2013 (PER 1.000 PENDUDUK)



Sumber: Ditjen Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan Kementerian Kesehatan

INFOGRAFIK: ARDIANSYAH

Gambar 2.1 Peta Endemisitas Malaria di Indonesia Tahun 2013 (Sumber: Kemenkes, 2014).

Jumlah kasus malaria di Provinsi Maluku berdasarkan indikator API yaitu 8,25% melalui pemeriksaan mikroskopis dan menduduki peringkat keempat secara nasional. Berbagai upaya yang telah dilakukan dalam pengendalian malaria dengan adanya intervensi program *Global Fund Aids*, TBC dan Malaria (GF-ATM) yang dilaksanakan pada tahun 2003 sampai saat ini dan direncanakan pada tahun 2030 Provinsi Maluku bebas malaria sesuai target nasional (Kemenkes, 2004).

Kabupaten Buru Selatan merupakan daerah endemis malaria dengan angka API yaitu 6,86 pada tahun 2014 selengkapnya tercantum pada Gambar 2.2 berikut:

Gambar 2.2 Data Malaria Provinsi Maluku (Dinkes Provinsi Maluku 2014)

C. Siklus Hidup *Plasmodium*

Siklus hidup parasit malaria melibatkan dua hospes yaitu manusia dan nyamuk *Anopheles*. Siklus seksual terjadi dalam tubuh manusia dan siklus aseksual terjadi pada tubuh nyamuk. Siklus aseksual terjadi pada saat nyamuk *Anopheles* menghisap darah manusia, kemudian melepaskan anti koagulan, sekaligus memasukkan *sporozoit* ke dalam darah manusia. *Sporozoit* mengikuti aliran darah dan *limfe* dalam waktu 60 menit *sporozoit* mencapai *hepatosit*. Siklus skizogoni jaringan atau siklus eksoeritrositik preeritrositik didalam *hepatosit*.

Sporozoit tumbuh dan terjadi replikasi DNA menjadi *skizon* yang berarti banyak (*scizogoni*), selanjutnya menghasilkan 10.000 - 30.000 *merozoit*. Infeksi pada *P. vivax* dan *P. ovale*, beberapa sporosoit menjadi dorman yang disebut hipnosoit yang dapat bereplikasi sehingga menyebabkan kambuh (*relaps*). *Relaps* dapat terjadi beberapa tahun setelah infeksi awal (Fairhurst and Wellems, 2005; White, 2009; Depkes, 2009; WHO, 2009; Shahinas *et al.*, 2013).

Siklus skizogoni eritrositik/siklus intra-eritrositik atau siklus eritrositik, dimulai dengan lepasnya merozoit hepatik ke dalam aliran darah. Merozoit berukuran minimal $0,9 \times 1,3 \mu\text{M}$, berbentuk *elips*, ujung apikal mengandung organel sekretori yang penting untuk invasi eritrosit, yaitu protein *Roptry*, *Microneme* dan *Dense Granule* (Haldar and Mohandas, 2009; Shahina *et al.*, 2013).

Meroziot *P. falciparum* setelah menginvasi sel darah merah didalam *pharasitiphorous vacuole* (PV)

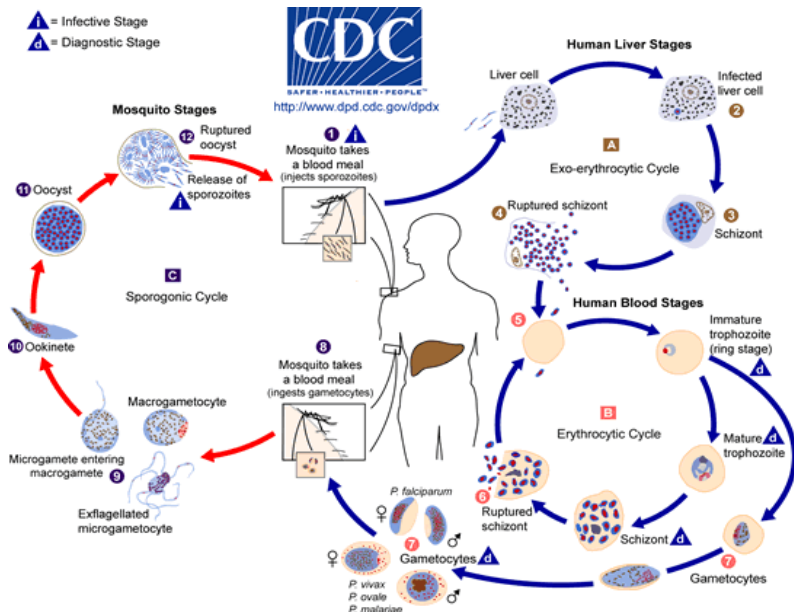
berkembang menjadi stadium cincin (*ring stage*) pada 20-24 jam pertama. Stadium ini parasit menemukan hemoglobin dan nutrisi plasma, mensintesa molekul stadium *ring* dan memodifikasi membran eritrosit. Bentuk stadium *ring* adalah biskoid bikonkaf dengan ukuran 2-3,7 μm . Bagian tepi dari cincin lebih tebal karena mengandung sebagian besar organel termasuk inti. Bentuk cincin dapat terlihat dibawah mikroskop cahaya dengan pengecatan giemsa (Fairhurst and Wellems, 2005; Maier *et al*, 2009 ; Shahinas *et al.*, 2013).

Stadium selanjutnya adalah trofozoit terlihat 24-36 jam sesudah invasi, pada stadium ini parasit makan, tumbuh dan memodifikasi membran eritrosit lebih dari stadium yang lain. Stadium ini berbentuk bulat dan *elips*, memiliki vakuola, pigmen tunggal dengan peningkatan basofil. Parasit pada stadium ini kehilangan bentuk bikonkafnya dan memutar ke dalam bentukan *elips*. Parasit terus tumbuh dan berdeferensiasi dan mengekspor celah vesikel kecil dan protein disekeliling eritrosit. Parasit terinfeksi mulai membentuk *knob* yang mengandung bahan padat dari *cytoskeleton* eritrosit dan mulai terlihat pada permukaan membran eritrosit terinfeksi. *Knob* meningkat seiring waktu dan mencapai ukuran maksimal pada awal stadium skizon (40-48 jam sesudah invasi).

Perkembangan dan deferensiasi selanjutnya, *Maurer's Cleft* bertindak sebagai organel sekretori yang menghitung protein virulen untuk dibawa ke membran eritrosit terinfeksi. Stadium ini juga ditandai oleh munculnya dua atau tiga *cytostomes*, yang terlibat dalam pembentukan vakuola makanan (*degistive vacuole* atau DV yang banyak mengandung hemoglobin. Pengolahan lebih lanjut dari hemoglobin terjadi didalam DV ini

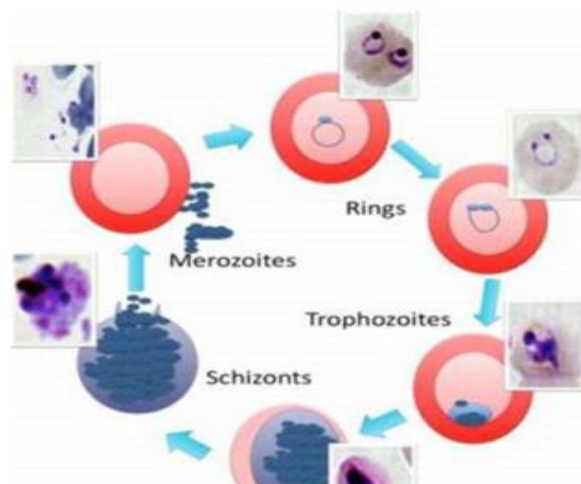
(Przyborski *et al.*, 2005; Shainas *et al.*, 2013). *Trofozoit* mereplikasi DNA untuk tumbuh menjadi skizon (Fairhurst and Wellem, 2005; Maier *et al.*, 2009; Shainas *et al.*, 2013). Stadium skizon, parasit melakukan mutasi, pembelahan inti, pembentukan merozoit dan multiplikasi organel. Inti mengalami mitosis sehingga terbentuk 8-32 inti *P. falciparum*.

Organel yang disintesis mengambil seluruh area dari *Red Blood Cell* (RBC) menjadi tunas merozoit (*merozoit budding*) dari *sitoplasma*. Eritrosit yang mengandung skizon pecah melepaskan 16-32 merozoit yang siap menginfeksi eritrosit yang baru, sehingga siklus eritrosit terulang kembali (Gambar 2.3 dan 2.4).



Gambar 2.3 Siklus Hidup Plasmodium
(Sumber: CDC, 2010).

Plasmodium memiliki waktu yang berbeda untuk replikasi seksual dalam satu siklus eritrosit. Spesies *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* membutuhkan waktu 48 jam, *P. malariae*, 72 jam dan *P. Knowles*, 24 jam ((Fairhurst and Wellems, 2005; Maier *et al.*, 2009; WHO, 2009; Shainas *et al.*, 2013; CDC, 2010)



Gambar 2.4 Ilustrasi Fase Eritrositik dan gambaran parasit pada stadium yang berbeda dengan menggunakan pengecatan *Giemsa* di bawah mikroskop cahaya (Sumber: Shahinas *et al*, 2013).

Siklus eritrositik adalah stadium dari siklus hidup parasit yang bertanggung jawab pada gejala klinis malaria (Fairhurst and Wellems, 2005; White, 2009; WHO, 2009). Beberapa merozoit yang memasuki eritrosit tidak berkembang menjadi skizon tetapi berdiferensiasi menjadi gametosit jantan dan betina (Gambar 2.4). Pemicu

perubahan dari aseksual menjadi seksual, belum diketahui tetapi perubahan ini sangat fleksibel dan sensitif terhadap stimulasi lingkungan (Butterworth *et al.*, 2013). Gametosit merupakan satu-satunya stadium parasit yang memediasi transmisi dari hospes ke vektor, melalui nyamuk *Anopheles* (Fairhurst and Wellem's, 2005; Shainas *et al.*, 2013; Butterworth *et al.*, 2013).

Plasmodium falciparum, gametosit biasanya terlihat pada 10-14 hari sesudah parasit aseksual pertama tampak didalam aliran darah (Fairhurst and Wellem's, 2005; Butterworth *et al.*, 2013). Proses maturasi gametosit terbagi menjadi 5 stadium (I-V). Perkembangan gametosit muda atau *immature gametocyte* (stadium II) mengandalkan pencernaan hemoglobin sebagai sumber dari asam amino sehingga rentan terhadap obat. Stadium yang mempengaruhi metabolisme hemoglobin gametosit stadium IV-V kurang aktif secara metabolik dibandingkan parasit stadium aseksual. Sehingga relatif tidak sensitif terhadap semua obat anti malaria, kecuali primakuin. Setelah mencapai kematangan 10-12 hari, gametosit dapat dibawa oleh orang yang terinfeksi sampai 55 hari setelah parasit stadium aseksual hilang oleh pengobatan (Fairhurst and Wellem's, 2005; Butterworth *et al.*, 2013).

Gametosit muda (stadium I-IV) tersembunyi (*squestration*) pada jaringan dan gametosit tua atau *mature gametocytes* (stadium V) dilepaskan dalam sirkulasi perifer dan hanya dapat berkembang diambil oleh nyamuk *Anopheles* (Fairhurst and Wellems, 2005; White, 2009; Butterworth *et al.*, 2013). Jika ada gigitan nyamuk pada orang yang terinfeksi parasit, gametosit ikut terhisap dan berkembang didalam tubuh nyamuk. Gamet jantan delapan mikrogamet berflagela. Satu mikrogamet memfertilisasi makrogamet (betina), menghasilkan zigot

yang motil, disebut ookinet memiliki kemampuan untuk bentuk bergerak melalui sel dinding lambung, membentuk Ookista. Ookista banyak sporozoit yang dihasilkan melalui reproduksi aseksual sampai pada semburan ookista (*Oocyst burst*). Ookista dilepaskan ke dalam rongga tubuh nyamuk. Kemudian sporozoit mencapai kelenjar ludah nyamuk, siap menularkan kembali pada saat nyamuk mengisap darah (Fairhurst *and* Wellem, 2005; Shahinas *et al.*, 2013; Butterworth *et al.*, 2013).

D. Diagnosis Malaria

Seseorang yang menunjukkan gejala malaria, maka anamnesa akan diarahkan pada pertanyaan: apakah penderita berada ditempat tinggalnya atau baru saja bepergian ke daerah lain yang kasus malaria. Setelah itu, dokter akan melakukan pemeriksaan fisik dan pemeriksaan darah. Pemeriksaan darah untuk mendiagnosa malaria meliputi tes diagnostik cepat malaria (RDT malaria) dan pemeriksaan darah penderita di bawah mikroskop. Tujuan pemeriksaan darah di bawah mikroskop adalah untuk mendeteksi parasit penyebab malaria dan mengetahui jenis malarianya. Perlu diketahui, pengambilan sampel darah dapat dilakukan lebih dari sekali dan menunggu waktu demam muncul.

Penyakit malaria pada umumnya, didiagnosis berdasarkan pada manifestasi klinis (termasuk anamnesis), uji *imunoserologis* dan penemuan parasit (*Plasmodium*) di dalam darah penderita. Manifestasi klinis demam seringkali tidak khas dan menyerupai penyakit infeksi lain (demam *dengue*, demam tifoid) sehingga menyulitkan para klinisi untuk mendiagnosis malaria (Depkes, 2003)

Pemeriksaan laboratorium untuk itu diperlukan sebagai penunjang diagnosis sedini mungkin (Depkes RI, 2003). Pemeriksaan laboratorium malaria secara garis

besar digolongkan menjadi dua kelompok yaitu: pemeriksaan mikroskopis dan uji imunoserologis untuk mendeteksi adanya antigen spesifik atau antibodi spesifik terhadap *Plasmodium*, namun yang dijadikan standar emas (*gold standard*) pemeriksaan laboratorium malaria adalah metode mikroskopis untuk menemukan parasit *Plasmodium* di dalam darah tepi. Uji imunoserologis dianjurkan sebagai pelengkap pemeriksaan mikroskopis didalam menunjang diagnosis malaria atau ditujukan untuk survei epidemiologi dimana pemeriksaan mikroskopis tidak dapat dilakukan (Depkes RI, 2003).

Penentuan diagnosis malaria dilakukan dengan melakukan berbagai pemeriksaan untuk mengklasifikasikan jenis malaria berdasarkan pemeriksaan laboratorium melalui identifikasi parasit malaria yang meliputi pemeriksaan *Rapid Diagnostik Test* (RDT), mikroskopis, serologi dengan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) dan pemeriksaan secara molekuler dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

1. Pemeriksaan malaria dengan menggunakan RDT

Pemeriksaan dengan tes diagnostik secara cepat menggunakan RDT, mekanisme kerja ini berdasarkan tes antigen parasit malaria dengan menggunakan imonokromatografi, dalam bentuk dipstik. Tes ini sangat bermanfaat bagi petugas kesehatan yang melaksanakan tugas di daerah terpencil, terisolir atau terjadi kejadian luar biasa (KLB). RDT yang tersedia di pasaran saat ini adalah mengandung; 1) *Histidine Rich Protein-2* (HRP-2), yang diproduksi oleh skison, trofosoit dan gametosid moda *P. falciparum*; 2) Enzim *Parasite Laktate Dehydrogenase* (p-LDH) dan *aldolase* yang diproduksi

oleh parasit bentuk aseksual atau seksual *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* dan *P. malariae* (Depkes, 2008)

2. Pemeriksaan Malaria dengan Cara Mikroskopis

Pemeriksaan dengan menggunakan sediaan darah (SD) tetes tebal dan tipis antara lain: 1) Untuk menentukan adanya spesies *Plasmodium*, ada tidaknya parasit (positif atau negatif). 2) menentukan spesies dan stadium *Plasmodium* dan 3) menentukan kepadatan parasit dengan kriteria menurut (Depkes, 2008) sebagai berikut:

a. Semi kuantitatif

- : Negatif (tidak ditemukan parasit dalam 100 lapang pandang besar (LPB))
- + : Positif 1 (ditemukan 1-10 parasit dalam 100 LPB)
- + : Positif 2 (ditemukan 11-100 parasit dalam 100 LPB)
- + : Positif 3 (ditemukan 1-10 parasit dalam 1 LPB)
- + : Positif 4 (ditemukan > 10 parasit dalam 1LPB)

b. Kuantitatif

Jumlah parasit dihitung per mikro liter darah pada sediaan darah tebal (leukosit) atau sediaan darah tipis (eritrosit). Misal ditemukan 1500 parasit per 200 leukosit, sedangkan jumlah leukosit 8.000/ μ L, maka hitung parasit = $8.000/20 \times 1.500$ parasit = 600.000 parasit / μ L.

Bila ditemukan 50 parasit per 1.000 eritrosit = 5% bila jumlah eritrosit 45.000/1.000 \times 50 = 225.000 parasit / μ L

3. Pemeriksaan malaria dengan menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

PCR menjadi metode untuk mendeteksi *Plasmodium spp* yang sensitif karena PCR dapat mendeteksi level parasitemia yang sangat rendah sampai dengan 1-3 parasit/ μ l. Molekul *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA) reporter untuk mendeteksi rangkaian DNA atau RNA spesifik yang dimiliki parasit tertentu. Prinsip kerja PCR adalah mengamplifikasi *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA) secara sistematis sehingga dapat mengidentifikasi DNA spesifik *plasmodium* untuk membedakan spesiesnya satu sama lain. Target amplifikasi DNA pemeriksaan ini ialah gen spesies spesifik *sequences* pada *Small Sub Unit ribosomal Ribonukleic Acid* (SSrRNA) (Cambey *et al*, 2014).

BAB 3

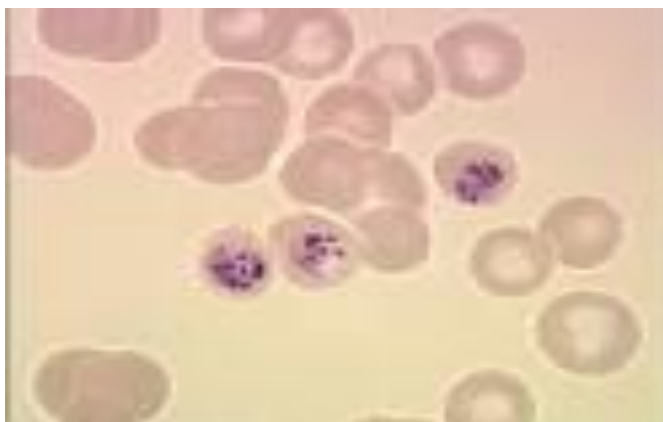
PROSES INFEKSI MALARIA

A. Infeksi *Plasmodium falciparum*

Plasmodium falciparum adalah parasit protozoa, yang merupakan salah satu spesies *plasmodium* yang menyebabkan penyakit malaria pada manusia. Protozoa ini masuk ke dalam tubuh manusia melalui nyamuk *Anopheles* betina. *Plasmodium falciparum* menyebabkan infeksi paling berbahaya dan memiliki tingkat komplikasi dan mortalitas malaria tertinggi. *P. falciparum* hidup dalam sel darah merah dapat ditemukan dalam bentuk stadium cincin, trofosoit, skizon dan bentuk gametosit yang memiliki ciri khas tertentu. Eritrosit yang terinfeksi parasit ini juga mengalami bentuk yang berbeda sesuai dengan bentuk parasit yang menginfeksi (Soedarto, 2011; Setiawan, 2014). *Plasmodium falciparum* memiliki ciri morfologis seperti tampak pada Gambar 2.5, 2.6, 2.7 dan 2.8 berikut ini.



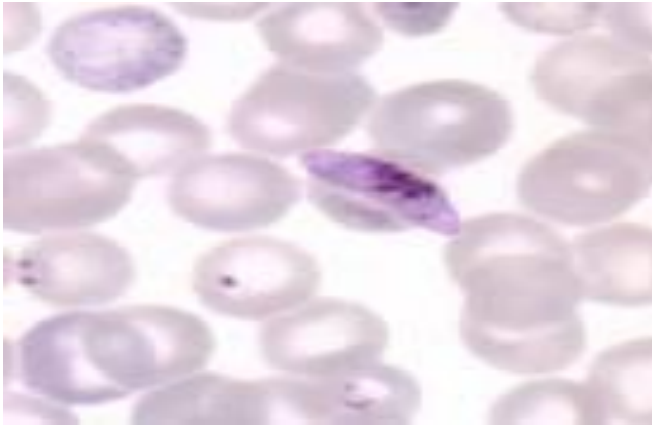
Gambar 3.1 Stadium Troposoit muda pada *P. falciparum*



Gambar 3.2 Stadium Skizon *P. falciparum*



Gambar 3.3 Stadium Makro gametosit pada *P. falciparum*



Gambar 3.4 Stadium Mikro gametosit pada *P. falciparum*

Plasmodium falciparum memiliki stadium yang berbentuk cincin (*ring*) terdapat dalam darah. Bentuk sitoplasma yang halus dan terdapat 1-2 bintik kromatin kecil, kadang juga ditemukan bentuk *applique* (*acole*). Bentuk eritrosit normal, lebih sering ditemukan infeksi lebih dari satu parasit didalam sebuah sel darah merah (*multi infection*) dibanding spesies *Plasmodium* lainnya.

Beberapa *P. falcifarum* pada proses pewarnaan ditemukan celah (*Maurer clefts*) (Soedarto, 2011).

Plasmodium falciparum bentuk skizon, bentuk ini jarang ditemukan di dalam darah tepi. Didalam sel darah merah skizon yang matang mempunyai 8-24 merozoit berukuran kecil yang mengumpul menjadi satu massa dan memiliki pigmen yang berwarna hitam menggumpal ditengah, skizon muda memiliki < 8 *P. falciparum* memiliki makrogametosit berbentuk pisang langsing, inti pada ditengah, pigmen mengelilingi inti, sitoplasma biru kelabu, sedangkan berbentuk pisang gemuk, inti tidak padat, pigmen mengelilingi inti, sitoplasma biru pucat kemerahan. (Soedarto, 2011)

B. Patogenesis

Eritrosit yang terinfeksi *P. falciparum* mengekspresikan *Erythrocyte Membrane Protein-1* (PfEMP-1) pada permukaannya sebagai perantara perlekatan dengan sel reseptor endotel *host* (*cytoadherence*) sehingga menyebabkan parasit tersembunyi (*sequestration*) pada berbagai organ dan menghindari pembersihan oleh limpa terjadi karena ikatan ligan PfEMP-1 dan reseptor permukaan endotel seperti *intracellular adhesion molecule-1* (ICAM-1), *scavenger receptor* CD36, *thrombospondin* (TSP), *condroitin sulfate-A* (CS A), *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1) dan *endothelial leucocyte adhesion molecule-1* (ELAM-1) (Cooke *et al.*, 2000; Crabb and Cowma, 2002).

Protein spesifik lain yang dikode parasit *Knob-associated histidin richprotein* (KAHRP), *Ring – infected eritrocyte surface antigen* (RESA), *Mature-parasite-infected erythrocyte surface antigen* (MESA), dan *P.*

falciparum membrane erythrocyte membrane protein-3 (PfEMP3). Ring – infected erythrocyte surface antigen (RESA) bergabung dengan spektrin dan menstabilkan membran sitoskeleton. PfEMP-1 berkaitan dengan kompleks *junction* pada saat PfEMP3 berkaitan dengan spektrin (Cooke *et al*, 2000; Miller *et al*, 2002; Maier *et al*, 2009).

Sequestration mengakibatkan penyumbatan pembuluh darah dan mengurangi transfer oksigen ke organ lain, menyebabkan hipoksia jaringan dan malaria berat (Miller *et al.*, 2002). Malaria berat berhubungan dengan fenotipe *P. falciparum* seperti *rosetting* (PRBC dengan RBC yang tidak terinfeksi), *auto-agglutination* (bergerombolnya eritrosit terinfeksi yang dijembatani oleh platelet) dan adhesi dan mikro vaskularisasi otak (Crab and Cowman, 2002). *Sequestration* dan variasi antigenik yang membuat terhindar dari respons imun tubuh berkontribusi pada virulensi, patogenesitas dan kemampuan mempertahankan diri *P. falciparum* (Miller *et al., et al.*, 2002; Kyes *et al.*, 2007; Maier *et al.*, 2009).

C. Manifestasi Klinik

Gejala malaria disebabkan oleh rusaknya eritrosit dan pecahnya skison yang mengeluarkan berbagai macam antigen antara lain *Glycosyl phosphatidylinositol* (GPI) dan merangsang sel makrofag, monosit atau limfosit mengeluarkan berbagai macam sitokin antara lain Tumor Nekrosis- α (TN $-\alpha$), yang akan dibawa aliran darah ke hipotalamus yang merupakan pusat pengatur suhu sehingga terjadi demam (Marsh and Snow, 1997; Atavanis-Tsakonas *et al.*, 2003).

Gejala klinis malaria dipengaruhi oleh galur *Plasmodium*, imunitas tubuh dan jumlah parasit yang

menginfeksi. Gambaran karakteristik klinik dari infeksi malaria adalah demam yang proksima, anemia dan *splenomegali*. Infeksi yang disebabkan oleh *P. falciparum* umumnya lebih berat dan lebih akut dibandingkan dengan spesies lain. Demam pada *P. falciparum* dapat terjadi setiap hari (White, 2009; Harijanto, 2010).

Proksima malaria atau trias malaria secara berurutan terdiri dari 3 periode yaitu: periode dingin, panas dan berkeringat (Fairhust *et al*, 2005; White, 2009).

1. **Periode dingin** (15-60 menit) yang ditandai dengan menggigil, kulit dingin dan kering, penderita sering membungkus diri dengan selimut, pada saat menggigil seluruh tubuh sering bergetar dan gigi saling terantuk, pucat sampai sianosis.
2. **Periode panas** (2-6 jam) yang ditandai dengan muka merah, kulit panas dan kering, nadi cepat, suhu tubuh dapat mencapai 40°C atau lebih, respirasi meningkat, nyeri kepala atau *retro-orbital*, muntah, dapat terjadi syok, delirium sampai kejang (pada anak) (Fairhust *et al.*, 2005; White, 2009).
3. **Periode berkeringat** (2-4 jam), penderita berkeringat mulai dari temporal kemudian diikuti seluruh tubuh sampai basah, temperatur turun, penderita merasa kelelahan dan sering tertidur (Fairhurst *et al.*, 2005; White, 2009; Harijanto, 2010).

Anemia merupakan gejala yang sering dijumpai pada infeksi malaria, terutama penderita di daerah endemik, terutama anak dan ibu hamil. Anemia terjadi karena pecahnya sel darah merah baik yang terinfeksi maupun tidak terinfeksi, hambatan *eritropoesis* yang sementara *eritrofagositosis*, penghambatan pengeluaran retikulosit. *Plasmodium falciparum* dapat menginfeksi

semua jenis sel darah merah, sehingga anemia dapat terjadi akut atau kronik (Marsh and Snow 1997; Faihurst *et al*, 2005; WHO, 2010). Limpa merupakan organ *retikulo-endotelial*, tempat *Plasmodium* dihancurkan oleh makrofag dan limposit, sehingga penambahan sel radang ini menyebabkan *splenomegali* (White, 2009; WHO, 2010; Buffet *et al.*, 2011).

WHO (2010) mendefinisikan malaria tanpa komplikasi adalah malaria simptomatis tanpa tanda kegawatan atau terdapatnya disfungsi organ vital baik secara klinis maupun secara laboratoris. Definisi malaria berat berdasarkan standar WHO (2006) adalah ditemukan *P. falciparum* stadium aseksual ditambah 1 dari 8 kriteria, yaitu kriteria radiologik dan 6 kriteria laboratorik (WHO, 2010). Kriteria klinis meliputi:

1. Malaria serebral (malaria otak) adalah malaria dengan penurunan kesadaran atau koma selama paling sedikit 1 jam setelah kejadian serangan kejang yang tidak disebabkan oleh penyakit lain. Penilaian koma dengan menggunakan *Glasgow Coma Scale* (GCS) pada orang dewasa dan anak berdasarkan *Blantyre Coma Scale* (BCS).
2. Sirkulatori kolaps atau syok: TD sistolik < 70 mmHg pada dewasa dan pada anak 1-5 tahun < 50 mmHg disertai keringat dingin.
3. Kejang berkali-kali/*multiple* (lebih dari 2 episode dalam 24 jam).
4. *Respiratory distress* (nafas asidosis).
5. *Prostration* (kelemahan menyeluruh: tidak dapat duduk/jalan tanpa bantuan, tidak bisa makan).
6. Ikterus.
7. Perdarahan spontan abnormal.
8. Hemoglobinuria

Kriteria radiologik: edema Paru

Kriteria laboratorik:

1. Anemia berat ($HB \leq 5 \text{ gr\%}$, atau hematokrit $\leq 15 \text{ gr\%}$ pada keadaan perhitungan parasit $> 10.000/\mu\text{L}$).
2. Gagal Ginjal Akut: produksi urin $< 400 \text{ cc/24 jam}$ pada orang dewasa atau pada anak $12 \text{ ml/kgBB/24 jam}$, setelah dilakukan rehidrasi, dan serum kreatinin $> \text{mg/dl}$ ($265 \mu \text{ mol/L}$).
3. Hipoglikemia : kadar gula darah $< 40 \text{ mg\%}$ (2.2 mm/L).
4. Hiperlaktaemia.
5. Hiperparasitemia.

Hiperpireksia (temperatur rektal $> 40^\circ\text{C}$ pada dewasa dan tidak berlaku untuk anak-anak).

Menurut Depkes (2017) diagnosis pasti malaria dengan pemeriksaan darah mikroskopis atau pemeriksaan RDT.

Anamnese

- a. Keluhan: badan menggigil, keluar keringan, demam dan sakit kepala disertai muntah, mual, diare dan nyeri otot atau pegal.
- b. Riwayat sakit malaria dan riwayat minum obat malaria
- c. Ada riwayat berkunjung ke daerah endemis malaria
- d. Pernah tinggal di daerah endemis malaria.

Pemeriksaan fisik

- a. Suhu tubuh pada pengukuran aksila $\geq 37,5^\circ\text{C}$
- b. Konjungtiva pucat, demikian juga telapak tangan
- c. Sklera ikterik
- d. Ditemukan pembesaran limpa (splenomegali)
- e. Ditemukan pembesaran hati (hepatomegali)

Pemeriksaan laboratorium

- a. Pemeriksaan mikroskopis
 - 1) Positif atau negatif malaria
 - 2) Species dan stadium plamodium
 - 3) Kepadatan parasit
- b. Pemeriksaan RDT, deteksi antigen parasit malaria

D. *Plasmodium falciparum* Merozoite Surface Protein (PfMSP-1)

Merosoit adalah stadium parasit yang hidup bebas, keluar dari hepatosis dan eritrosit yang terinfeksi menyerang eritrosit untuk memulai siklus fase eritrositik. Replikasi lebih lanjut dalam eritrosit mengeluarkan meroosit setiap 48 - 72 jam. MSP-1 adalah protein dengan berat molekul yang tinggi diekspresikan pada permukaan meroosit dan berperan penting dalam invasi parasit ke dalam eritrosit. Protein ini disintesis sebagai *precursor* yang besar selama skisogoni dan diproses melalui pemecahan proteolitik menjadi 4 polipeptida utama yaitu 83, 30, 38 dan 42 kDa dari ujung N ke ujung C (Holder *et al.*, 1988; Holder *et al.*, 1999).

MSP-1 adalah protein yang terletak dipermukaan meroosit yang merupakan protein multi dominan besar terkait dengan kompleks apikal *merozoit*. Protein dipotong oleh protase spsifik selama invasi eritrosit. MSP-1 yang terdapat dalam permukaan merozoit adalah pemecahan protelik oleh protase, dalam berbagai penelitian, MSP-1 berperan dalam menginduksi respos imun proaktif serta dapat menjadi kandidat antigen pada stadium eritrosit (Holder *et al.*, 1999).

MSP-1 adalah antigen permukaan utama pada meroosit dan merupakan protein stadium merozoit yang paling banyak diteliti. Proses invasi, beberapa bagian dari protein permukaan meroosit yang berukuran 195-kDa

terpecah, meninggalkan fragmen yang stabil yaitu fragmen protein dengan C terminal yang disebut MSP-1. Protein ini memiliki epitop yang merupakan target antibodi yang menghambat invasi eritrosit (Perraut *et al.*, 2000).

Proses invasi selama berlangsung, maka ujung C dari fragmen 42 kDa (MSP-1) diproses lebih lanjut menjadi fragmen protein dengan berat molekul 33 kDa (MSP-1) dan 19 kDa (MSP-1) yang kemudian tetap tertinggal pada permukaan merozoit dan dibawa ke dalam eritrosit yang diinfeksi. Tetapi fragmen yang lain disekresi dari permukaan merozoit (Blackman *et al.*, 1991; Blackman *et al.*, 1992). Individu yang terinfeksi *P. vivax* secara alamiah mendapatkan respons imun humoral terhadap ujung C dari MSP-1 atau MSP-1 (Soares *et al.*, 1997). Percobaan pada *in vitro* *P. falciparum* antibodi yang mengenali daerah ujung C dari PfMSP-1 menghambat invasi merozoit. Imunisasi pada binatang percobaan dengan MSP-1 menimbulkan imunitas protektif. Penemuan ini menunjukkan bahwa MSP-1 adalah merupakan kandidat antigen untuk pengembangan vaksin anti stadium eritrositik, akan tetapi genetik *polimorfisme* yang mengkodekan *region* ini pada *P. vivax* merupakan faktor penting dalam pengembangan vaksin (Blackman *et al.*, 1990; Yeom *et al.*, 2008).

Fungsi MSP-1 belum diketahui dengan pasti. Proses sporulasi, merozoit akan dilepas ke dalam pembuluh darah hospes untuk menginvasi sel darah merah. Pada fase ini, MSP-1 bertindak sebagai antigen yang dapat menimbulkan reaksi imun menyebabkan terjadinya demam pada tubuh hospes yang terinfeksi malaria. Jika merozoit berhasil memasuki sel darah merah, selubung protein permukaan akan dilepas sehingga MSP-1 tidak terdeteksi keberadaannya didalam sel darah merah. Sifat

antigenik MSP-1 dapat dijadikan dasar desain vaksin malaria karena secara cepat akan menimbulkan reaksi imun pada tubuh inang (Christian, 2006).

Pendapat Ferreira *et al.*, (1998) di negara Brasil, Tanzania dan Vietnam, menunjukkan bahwa terdapat keaneka ragaman genetik MSP-1 pada setiap daerah endemi malaria. Adanya perbedaan lingkungan eksternal merupakan faktor utama penyebab terjadinya keragaman pada gen MSP-1. Keanekaragaman tersebut mengakibatkan terbentuk perbedaan genetik MSP-1 diantara masing-masing daerah endemi malaria. Di Brazil ditemukan MSP-1 dengan 10 variasi alel, di Vietnam 23 variasi alel dan di Tanzania dijumpai 13 variasi alel. Variasi alel *MSP-1* diatas disebabkan karena mutasi substitusi, insersi dan delesi dapat terjadi secara bersamaan.

MSP-1 adalah kandidat utama vaksin malaria. Imunisasi dengan MSP-1 afinitas murni dan rekombinan MSP-1 dapat melindungi kera dari infeksi *P. falciparum* dan antibodi terhadap MSP-1 dan menghambat pertumbuhan *P. falciparum in vitro*. Antibodi berkadar tinggi terhadap MSP-1 berhubungan dengan proteksi dalam malaria klinis, akan tetapi protein MSP-1 mempunyai *polimorfisme antigenic* diantara strain parasit atau diantara isolat parasit. *Polimorfisme* antigenik adalah merupakan salah satu kunci dalam pengembangan vaksin malaria yang efektif. Model dari *polimorfisme* gen MSP-1 dan mekanisme dalam menurunkan diversitas genetik harus dipelajari lebih detail.

Protein permukaan merozoit lainnya yang terasosiasi bersama MSP-1 yang menempel pada membran plasma adalah meliputi MSP-2, MSP-4, MSP-5, MSP-8 dan MSP-10, dan protein yang mudah larut

seperti MSP-3, MSP-10, MSP-7 dan ABRA/MSP-9, *Serine Rich Antigen* (SERA) serta antigen S. Protein tersebut bergabung membentuk filamen pada permukaan membran *merozoit*. MSP-1 sangat banyak tersedia dibanding jumlah protein permukaan *merozoit* lainnya sehingga menjadi salah satu alasan bagi banyak peneliti memilih MSP-1 untuk dikarakterisasi terutama sebagai bahan penelitian *polimorfisme* dan kandidat vaksin malaria (Topolska, 2004; Arwati, 2010).

MSP-2 merupakan protein pada permukaan merosoit dengan berat molekul 43-56 kDa. Protein tertanam pada permukaan merosoit dengan *glycosyl phosphatidyl inositol* (GPI) tetapi tidak dibawa oleh merosoit pada saat invasi. Protein ini sangat bervariasi diantara strain parasit (Symithe *et al*, 1998; Symithe *et al*, 1991). Protein ini dikenali oleh antibodi yang menghambat pertumbuhan parasit ini. MSP-2 dijadikan sebagai vaksin malaria (Holder, 1996; Arwati, 2010).

MSP-3 dan *Secreted Polymorphic Antigen Associated White Merozoit* (SPAM) memiliki *partial sequence* yang sama. Protein merupakan *soluble protein* yang berhubungan dengan permukaan merosoit. Protein ini memiliki berat molekul 43 kDa dan merupakan protein yang sangat hidrofobik (McColl *et al*, 1994). Parasit yang dihilangkan MSP-3 dan *acidic-basic repeat amino acid* (ABRA) menunjukkan penurunan invasi eritrosit, sehingga dikatakan bahwa, MSP-3 tidak esensial untuk pertumbuhan parasit inter eritrositik (Mills *et al.*, 2002).

MSP-1 dan MSP-5 merupakan protein permukaan merosoit yang mengandung *single epidermal growth factor-like domain*. Protein ini didalamnya terdapat *sequence* signal N-terminal dan *sequence* hidrofobik C-terminal. Protein ini juga tertanam didalam merosoit

dengan GPI. MSP-4 memiliki berat molekul 40 kDa, sedangkan MSP-5 memiliki berat molekul 101 kDa (Marshall *et al.*, 1997; Wu *et al.*, 1999).

MSP-1 kompleks terdiri dari polipeptida dengan berat molekul 36,22 dan 19 kDa, yang merupakan ekspresi dari dua gen yang berbeda. Protein 36 kDa yang merupakan derivat dari prekursor protein permukaan merozoit ini kemudian disebut MSP-6 (Tru'ong *et al.*, 2001). Protein 22 dan 19 kDa protein kemudian disebut MSP-7 (Pachebat *et al.*, 2001).

MSP-8 merupakan protein pada membran stadium cincin yang berlokasi di vakuola parasitoforus dari eritrosit terinfeksi. Protein ini mengandung dua *epidermal growth factor-like domain* pada C terminal, dan dianggap sebagai target potensial imunitas protektif (Jlack *et al.*, 2001; Drew *et al.*, 2005).

MSP-9 dari *P. vivax* adalah ortholog dengan *P. falciparum* ABRA yang dikenal dengan pi 01 (Vargas-Serrato, 2002). Lokasi *P. falciparum* ABRA diidentifikasi terdapat pada permukaan merozoit dan vakuola parasitoforus, ABRA juga dikenal sebagai kandidat vaksin malaria (Weber *et al.*, 1998).

MSP-10 merupakan protein permukaan merozoit yang berkaitan dengan reseptor pada membran permukaan eritrosit manusia, hal ini menjadikan MSP-10 sangat penting dalam proses invasi parasit ke dalam eritrosit. MSP-10 protein diidentifikasi sebagai *high activity binding peptides* (HSBPs) yang menyebabkan sensitif terhadap neuraminidase (Puentes *et al.*, 2005).

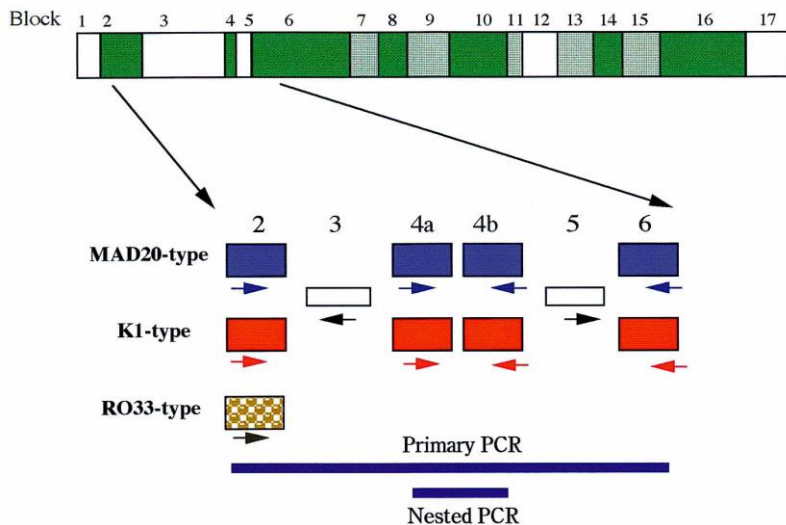
E. Fungsi Genetik MSP-1

MSP-1 Merupakan target antibodi yang bertanggung jawab melindungi eritrosit dan sel darah

merah saat skizon pecah untuk menginvasi eritrosit. Variasi dalam struktur protein permukaan merozoit termasuk antibodi yang dihasilkan dari perubahan asam amino tunggal secara fungsional dapat mengubah mekanisme antigen secara kompleks. MSP-1 spesifik telah dilaporkan menghambat siklus aseksual dapat menentukan daerah fungsional molekuler tersebut (Holder *et al*, 1994).

F. Struktur Genetik MSP-1

Struktur genetik MSP-1 menurut Tanabe *et al.*, (1999) seperti diperlihatkan pada Gambar 3.5 berikut:



Gambar 2.9 Struktur gen MSP-1.

(Sumber: Tanabe *et al*, 1999).

Beberapa gambaran variasi dalam MSP-1 di antara strain/isolat parasit:

1. Genetik MSP-1 mempunyai 17 blok yang terdiri dari 5 blok *conserve* (Blok 1, 3, 5, 12, 17) diselingi dengan 7 blok variabel (Blok 2, 4, 6, 8, 10, 14, 16) dan 5 blok *semi conserve* (Blok 7, 9, 11, 13, 15).

2. Variasi dalam blok variabel tidak polimorfik secara luas tetapi pada dasarnya adalah dimorfik, yang diwakili oleh 2 *prototype allele*, yaitu: alel K1 dan MAD20.
3. Variasi *sequens* dalam tipe alel yang sama adalah sedikit identik, tetapi sangat berbeda antar kedua tipe alel utama tersebut. Pengecualian ada pada blok 2 yaitu polimorfik, karena terjadi 3 tipe alel tergantung pada:
 - a. Ada atau tidak adanya pengulangan unit sepanjang 9 bp
 - b. Jumlah pengulangan unit tersebut
 - c. Tipe pengulangan unit tersebut
4. Kombinasi genetik antara 2 alel parental menurunkan alel baru berupa progeny, telah dibuktikan dalam *experimental cross*.
5. Daerah rekombinasi potensial adalah blok *conserve* 3 dan 5, dan blok variabel yang *conserve* membentang pendek pada blok 4 yang terbagi dalam sub blok 4a dan 4b. Daerah rekombinasi potensial lain adalah blok *conserve* blok 1 dan blok 17. Tetapi blok 1 dan 17 tidak dianggap karena rekombinasi disini tidak merubah blok variabel. Blok 6 – 16 : tidak ada pembuktian sampai saat ini.

G. Polimorfisme Genetik

Polimorfisme genetik adalah variasi struktur genetik dalam satu populasi untuk mengetahui aman tidaknya satu populasi. Pengungkapan polimorfisme genetik dapat memberikan gambaran apakah kehidupan suatu populasi tersebut dalam keadaan aman atau terancam. Suatu populasi dengan polimorfisme genetik yang rendah cenderung kehidupan jangka panjangnya terancam, perlu pemilihan langkah penyelamatan populasi untuk masa

depan sehingga dapat diambil dengan tepat (Wandia *et al.*, 2009).

Materi genetika berupa DNA dapat dipakai untuk mengungkap polimorfisme genetika. DNA adalah molekul polimer, yaitu terdiri atas rantai monomer nukleotida. Marka mikrosatelit merupakan marka genetika yang sering digunakan untuk mempelajari struktur populasi (Steffen *et al.*, 1993), pautan (*linkage*) dan pemetaan kromosom. Berbeda halnya dengan marka protein, marka mikrosatelit merupakan segmen langsung dari genom (DNA) sehingga variasi genetika yang ditemukan mencerminkan variasi genetika yang sebenarnya (Silva *et al.*, 1999).

H. Perbedaan Polimorfisme Genetik PfmSP-1 Berdasarkan Letak Geografis

Fitri *et al.*, 2011 menjelaskan bahwa terjadinya polimorfisme alel yang beraneka ragam dari MSP-1 diidentifikasi pada isolat *P. falciparum* di daerah pegunungan dan daerah pantai di Sumatera Barat, kebanyakan infeksi yang ditemukan berupa infeksi campuran. Analisa urutan MSP-1 blok 2 mengungkapkan bahwa teridentifikasi 16 alel berbeda untuk MSP-1 dan 3 alel untuk tipe K1, 2 alel untuk tipe MAD20 dan 2 untuk tipe RO33.

Salem *et al.*, (2014) menyebutkan di Mauritania Afrika, keragaman genetika *P. falciparum* telah banyak dipelajari dari berbagai belahan dunia tetapi terbatas. Data yang tersedia di Mauritania adalah salah satu studi populasi struktur genetika *P. falciparum* menggunakan MSP-1, MSP-2, penelitian dilakukan selama 15 tahun untuk mengetahui dan membandingkan keanekaragaman genetika *P. falciparum* isolat diantara pasien demam yang berobat ke fasilitas kesehatan di Nouakchott dan Hodh El

Wilayah Gharbi di Mauritania selama transmisi puncak malaria, menggunakan pengkodean gen polimorfik untuk MSP-1. Penelitian dilakukan pada lokasi yang berbeda di Afrika untuk menilai *polimorfisme* dari PfMSP-1 blok 2 jenis alel *P. falciparum* isolat menyebutkan bahwa hampir 80% populasi didiagnosis kasus malaria disebabkan oleh *P. falciparum*. Pemahaman tentang Struktur genotip *P. falciparum* menjadi penting untuk penerapan strategi pengendalian malaria. Data yang diperoleh menunjukkan sifat polimorfik relatif tinggi K1, MAD20 dan RO33.

Hasil penelitian yang sama dikemukakan oleh Jordan *et al.*, (2001) mencatat ukuran alel yang berbeda untuk K1, MAD20 dan RO33. *P. falciparum* isolat dari pasien malaria di Aioun dan Kobeni area yang berlokasi di Mauritania Selatan. Jumlah alel MSP-1 berbeda yang diamati antara *P. falciparum* isolat juga sebanding dengan yang dilakukan oleh Konate *et al.*, (1999) di daerah *holoendemic* dari Dielmo (Senegal) yaitu 33 alel MSP-1 ditemukan, namun kurang dari yang dilaporkan oleh Soulama *et al.*, (2009) menemukan 41 alel dengan ukuran yang berbeda untuk MSP-1 blok 2. *P. falciparum* isolat dikumpulkan dari anak dengan infeksi malaria tanpa komplikasi di wilayah Burkina Faso.

Penelitian ini juga mengungkapkan dominasi jenis alel K1 baik di tingkat lokasi penelitian atau seluruh populasi dibandingkan dengan MAD20 dan RO33. Temuan serupa sebelumnya dilaporkan di antara parasit *P. falciparum* isolat dari Aioun dan Kobeni Dakar. Isolat *P. falciparum* isolat dari 48 pasien di Senegal dirawat inap karena malaria menunjukkan prevalensi 68% untuk alel K1, sebagian besar isolat adalah infeksi campuran (82.3%) yang mengandung lebih dari satu jenis alel. Namun prevalensi pasien dengan infeksi multiklonal adalah serupa

dalam semua lokasi penelitian. Sebuah multiplisitas relatif tinggi infeksi (MOI) diamati antara pasien *P. falciparum* baik pada tingkat lokasi penelitian atau lebih dari semua situs penelitian mencerminkan tingkat intensitas tinggi transmisi malaria selama masa studi. Perbandingan *P. falciparum* sampel positif diambil dari pasien demam di Aïoun dan 110 sampel positif dari Kobeni.

Beberapa infeksi campuran pada pasien yang terinfeksi disebabkan oleh tingkat inokulasi dengan vektor nyamuk inaktif tunggal dengan membawa beberapa klon parasit dari Desa Dielmo Negara Senegal. Konteks penelitian ini, sulit untuk berspekulasi tentang pengaruh nyamuk inokulum pada banyaknya infeksi karena tidak ada data tersedia di lokasi penelitian. Nilai MOI dilaporkan dalam penelitian ini konsisten dengan yang dilaporkan dari daerah dengan endemisitas malaria tinggi (Jordan *et al.*, 2001)

Penelitian lain menemukan tidak ada hubungan antara MOI dengan usia pasien. Investigasi tersebut dilakukan di Desa (Ndiop) Senegal dimana malaria musiman adalah *mesoendemic* dan Benin (Cotonou), ditemukan bahwa MOI tidak dipengaruhi oleh usia pasien. Penelitian malaria sebelumnya mengenai variasi MOI, menunjukkan bahwa pengaruh usia pada multiplisitas infeksi sangat dipengaruhi oleh endemisitas malaria yang mungkin merupakan cerminan dari perkembangan kekebalan khusus anti parasit. Namun penemuan ini kontras dengan laporan dari lokasi lain, hubungan positif antara banyaknya infeksi dan kepadatan parasit diamati dalam penelitian ini ($MOI = 2.6 - 3.6$).

Kondisi ini konsisten dengan banyak laporan yang menunjukkan bahwa kepadatan parasit yang lebih tinggi meningkatkan kemungkinan mendeteksi klon bersamaan

pada individu. Penelitian ini menggunakan *P. falciparum* isolat dari pasien dengan gejala klinis, sehingga MOI mungkin lebih rendah dari yang dilaporkan pada pasien tanpa gejala. Migrasi penduduk menyebabkan perpindahan parasit dari populasi yang terinfeksi *P. falciparum* terutama dijumpai pada anak-anak. Laporan menunjukkan bahwa MOI akan mencerminkan individu yang terinfeksi memiliki kekebalan terhadap malaria, dengan demikian MOI harus dipelajari dalam populasi *P. falciparum* yang terinfeksi asimtomatik di Mauritania, terutama pada anak-anak. Kesamaan tersebut antara strain *P. falciparum* dapat dijelaskan oleh migrasi penduduk antara lokasi penelitian yang memungkinkan untuk pertukaran populasi parasit. Hasil yang sama tercatat di berbagai daerah endemis malaria.

Berdasarkan laporan penelitian pertama dan kedua tentang epidemiologi molekuler *P. falciparum* dilakukan oleh Jordan *et al.*, (2001) di wilayah kawasan Aioun dan Kobeni Departemen HG terhadap Departemen Tintane kawasan yang sama dan Nouakchott di wilayah ibu kota Mauritania, menunjukkan bahwa populasi *P. falciparum*, di Kobeni dan Aion, telah mempertahankan tingkat polimorfisme yang tinggi dalam MSP-1 blok 2. Studi menggunakan jumlah sampel darah yang lebih besar yang dikumpulkan dari wilayah geografis yang berbeda di Mauritania dituntut tidak hanya untuk menentukan heterogenitas epidemiologi parasit malaria tetapi juga untuk melaksanakan program nasional pengendalian malaria di negara ini.

Keragaman genetik *P. falciparum* telah banyak dipelajari dari berbagai belahan dunia tetapi terbatas, data yang tersedia di Mauritania adalah salah satu studi populasi struktur genetik *P. falciparum* menggunakan

MSP-1, MSP-2 dan penelitian dilakukan selama 15 tahun untuk mengetahui dan membandingkan keanekaragaman genetik isolat *P. falciparum* di antara pasien demam yang berobat ke fasilitas kesehatan di Nouakchott dan Hodh El Wilayah Gharbi di Mauritania, selama puncak transmisi malaria, menggunakan pengkodean gen polimorfik untuk MSP-1.

Salem *et al.*, (2014) mengemukakan bahwa untuk menilai *polimorfisme* dari MSP-1 blok 2 jenis alel isolat *P. falciparum* dari lokasi penelitian yang berbeda di Negara Mauritania. *P. falciparum* merupakan penyebab utama tingginya kasus malaria sebanyak 80% terjadi di Afrika. Pemahaman tentang struktur *genotype* pada populasi *P. falciparum* menjadi sangat penting untuk penerapan strategi pengendalian malaria yang lebih baik.

Jordan *et al.*, (2001) mengemukakan bahwa ukuran dari tiap alel yang berbeda untuk K1, MAD20 dan RO33 isolat *P. falciparum* dari pasien malaria di Aïoun dan wilayah Kobeni yang berlokasi di Mauritania selatan. Jumlah alel MSP-1 yang berbeda diamati antara isolat *P. falciparum* juga sama dengan yang dilakukan oleh Konate di daerah *holoendemic* dari Dielmo (Senegal), yaitu kurang dari 33 alel MSP-1. Dibuktikan oleh Soulama *et al.*, (2014) yang menemukan 41 alel ukuran yang berbeda untuk MSP-1 blok 2 isolat *P. falciparum* dikumpulkan dari sampel anak yang dengan infeksi malaria tanpa komplikasi di Wilayah Burkina Faso. Penelitian ini juga mengungkapkan dominasi jenis alel K1 baik ditingkat populasi atau lokasi penelitian dibandingkan dengan MAD20 dan RO33.

Temuan serupa sebelumnya dilaporkan di antara isolat parasit *P. falciparum* dari Aïoun dan Kobeni Dakar, isolat *P. falciparum* dari 48 pasien rawat inap dengan malaria

di Senegal menunjukkan prevalensi 68% untuk alel K1. Sebagian besar isolat adalah memiliki infeksi campuran (82.3%) yang lebih dari satu jenis alel. Namun prevalensi pasien dengan infeksi multiklonal adalah sama dalam semua lokasi penelitian. Sebuah multiplisitas infeksi relatif tinggi (MOI), semua penderita *P. falciparum* diamati di lokasi penelitian mencerminkan tingkat intensitas transmisi malaria tinggi.

Berdasarkan laporan penelitian pertama dan kedua tentang epidemiologi molekuler *P. falciparum* dilakukan oleh Jordan *et al.*, (2001) di Wilayah Aion dan Kobeni Departemen HG terhadap Departemen Tintane di kawasan yang sama dan Nouakchott Ibukota Kota Mauritania menunjukkan bahwa, populasi *P. falciparum*, di wilayah Kobeni dan Aion, telah mempertahankan tingkat *polimorfisme* yang tinggi dalam MSP-1 blok 2. Studi menggunakan jumlah sampel darah yang lebih besar yang dikumpulkan dari wilayah geografis yang berbeda di Mauritania dituntut tidak hanya untuk menentukan heterogenitas epidemiologi parasit malaria tetapi juga untuk melaksanakan program nasional pengendalian malaria.

Penelitian yang serupa juga dilakukan oleh Atroosh *et al.*, (2011) menyebutkan bahwa malaria di Malaysia masih merupakan masalah kesehatan masyarakat, terutama di Negara bagian Sabah dan Serawak, semenanjung Malaysia (Malaysia Timur). Penelitian ini pertama dilakukan pada keragaman genetik dan genotip multiplisitas *P. falciparum*, yang dilakukan dengan menggunakan sampel darah yang diperoleh dari hasil pemeriksaan mikroskopis sebanyak 822 sampel darah yang dikumpulkan dari berbagai daerah di Pahang Malaysia, 65 sampel diataranya diketahui terinfeksi *P.*

falciparum, kemudian semua *slide* yang dinyatakan positif malaria dengan *P. falciparum* dan parasitemia dicatat semua kasus positif tunggal infeksi *falciparum* dan infeksi campuran disiapkan untuk pemeriksaan molekuler dengan metode PCR. Hasil penelitian menunjukkan bahwa intensitas transmisi malaria *P. falciparum* rendah di Pahang Malaysia, alel yang paling banyak ditemukan adalah RO33 dan 3D7. Hasil temuan ini menunjukkan bahwa *P. falciparum* memiliki keragaman alel rendah dengan frekuensi alel tinggi (Atroosh *et al.*, 2011).

BAB 4

KARAKTERISTIK MASYARAKAT DAN HUBUNGANNYA DENGAN PENYAKIT MALARIA

A. Masyarakat Tertutup

Masyarakat tertutup merupakan masyarakat yang hidup secara tradisional, tidak melakukan aktivitas bepergian ke daerah lain, memiliki perilaku klasik (*clasic behavior*) yang dilakukan secara turun temurun. Masyarakat tertutup hidup secara vegetatif dengan memanfaatkan kekayaan alam yang ada disekitarnya, dengan bercocok tanam secara tradisional yang hanya sekedar untuk memenuhi kebutuhannya. Masyarakat tertutup belum banyak berinteraksi dengan dunia luar, tidak ada tekanan lingkungan misalnya, pembangunan jalan, pembangunan bendungan untuk pembangkit tenaga listrik, pertambangan dan pemanfaatan lahan untuk sektor industri pertanian dan peternakan (Confalanieri *et al.*, 2014).

Masyarakat tertutup banyak dijumpai di Provinsi Maluku khususnya di Kabupaten Buru Selatan memiliki masyarakat yang masih mempertahankan budaya yang

diwariskan dari leluhur mereka. Latuconsina, (2007) menjelaskan sejarah masyarakat terasing yang berada di Provinsi Maluku adalah bersumber dari Pulau Seram (Nusa Ina) yang berarti pulau ibu.

Kehidupan masyarakat suku tertutup ini hanya bergantung pada alam sekitar, misalnya bercocok tanam, berburu yang hanya sekedar untuk kehidupan sehari-hari. Masyarakat suku tertutup ini masih memegang teguh pada kepercayaan leluhur dan masih melestarikan budaya yang diwariskan oleh sang leluhur mereka. Suku tertutup ini mulai terpencar ke pulau lain yang ada di Maluku, diantaranya adalah suku Masarete dan Waesama di Pulau Buru Kabupaten Buru Selatan.

Masyarakat tertutup yang ada di Pulau Buru terbagi atas beberapa suku yaitu Suku Masarete, adalah salah satu suku yang berada di bagian selatan Pulau Buru Provinsi Maluku. Populasi Suku Masarete diperkirakan sebesar 9.600 orang. Suku Masarete di Desa Masarete memiliki populasi yang kecil dibanding Suku Buru yang menjadi mayoritas di Pulau Buru. Suku Masarete masih memiliki hubungan kekerabatan dengan Suku Fogi, Wae Sama dan Ambelau. Hal ini dilihat dari kesamaan adat, budaya dan bahasa (Portomalayan, 2012).

Tabel 4.1 Perbedaan Suku Masarete, Wae Sama dan Fogi di Kab. Buru Selatan

MASYARAKAT TERTUTUP		
Suku Masarete	Suku Wae Sama	Suku Fogi

	Suku Wae Sama Minoritas merupakan suku Masyarakat suku minoritas di Pulau Fogi di Pulau Buru Buru, sedangkan yang di antara Suku menjadi mayoritas Buru dan suku- adalah Suku Buru suku lain yang yang memiliki menjadi suku populasi terbanyak. mayoritas di Pulau Buru	
Bahasa yang digunakan adalah Bahasa Buru.	Bahasa yang digunakan adalah Bahasa Buru.	Bahasa yang digunakan adalah Bahasa Buru
Suku Masarete	Suku Wae Sama	Suku Fogi
Masyarakat Suku Masarete sebagian besar beragama Kristen, dan sebagian kecil beragama islam.	Masyarakat Suku Wae sama memeluk agama islam maupun beragama kristen, namun kehidupan keseharian ada yang mempercayai gaib, seperti tempat keramat dan roh di sekitar lingkungan	Masyarakat Suku Fogi agama yang dianut bervariasi diantaranya beragama hindu, kristen, animisme dan sebagian kecil menganut agam islam yang hidupnya dipesisir laut.

Sumber: Portomalayan, 2012 .

B. Masyarakat Terbuka

Masyarakat terbuka memiliki ciri kehidupan yang modern bila dibandingkan dengan masyarakat tertutup atau tradisional. Masyarakat terbuka memiliki kehidupan

yang dinamis, memiliki lingkungan yang sudah berubah, pemanfaatan lahan untuk aspek pembangunan yang berdampak pada kehidupan masyarakat. Dampak dari perubahan lingkungan memberikan nilai positif dan negatif, misalnya pembangunan sektor industri pertambangan, pertanian, pembangunan jalan, pembuatan bendungan pembangkit listrik, pembukaan tempat pemukiman baru yang berdampak pada penggundulan hutan (*deforestation*), mengakibatkan terjadinya perubahan iklim dan pemanasan global. Perubahan lingkungan menyebabkan berbagai macam penyakit termasuk malaria (Confalanieri *et al.*, 2014)

Kartasasmita (1997) menyebutkan bahwa masyarakat terbuka adalah masyarakat yang sebagian besar warganya mempunyai orientasi nilai budaya yang terarah ke kehidupan dalam peradaban masa kini. Masyarakat terbuka pada umumnya tinggal di daerah perkotaan, sehingga disebut masyarakat kota. Namun tidak semua masyarakat kota tidak dapat disebut masyarakat terbuka, sebab orang kota tidak memiliki orientasi ke masa kini, misalnya gelandangan.

Masyarakat terbuka pada umumnya memiliki ciri utama terbuka yang melatar belakangi sistem atau model manapun dari suatu masyarakat terbuka adalah derajat rasionalitas yang tinggi dalam arti bahwa kegiatan dalam masyarakat demikian terselenggara berdasarkan nilai dan dalampola yang objektif (*impersonal*) dan efektif (*utilitarian*), dibandingkan yang bersifat primordial, seremonial atau tradisional (Kartasasmita, 1997).

C. Riwayat Berpergian

Menurut Jordan *et al.*, (2001) migrasi penduduk menyebabkan perpindahan populasi yang terinfeksi parasit

P. falciparum terutama pada anak. Berbagai laporan menyebutkan bahwa *Multiplicity of Infection* (MOI) akan mencerminkan individu yang terinfeksi memiliki kekebalan terhadap malaria, dengan demikian harus dipelajari dalam populasi yang terinfeksi *P. falciparum* asimtomatik terutama pada anak yang memiliki kesamaan antara strain *P. falciparum* dapat dijelaskan oleh migrasi penduduk yang memungkinkan untuk pertukaran parasit pada populasi, hal yang sama dijumpai diberbagai daerah endemis malaria.

Perpindahan penduduk dari suatu daerah ke daerah lain yaitu daerah endemis ke daerah non edemis malaria atau sebaliknya. Migrasi penduduk yang datang dan pergi selama kurun waktu tertentu (masa inkubasi) *plasmodium*. Mobilitas penduduk sangat berhubungan misalnya *vulnerability* yaitu menunjukkan suatu daerah malaria atau vektor yang terinfeksi. Mobilitas di daerah *unstable* malaria ke daerah *stable*, dimana transmisi di daerah tersebut tinggi tanpa banyak fluktuasi selama bertahun tahun cukup tinggi. Malaria yang *unstable* lebih mudah ditangani daripada di daerah *stable* (Harijanto, 2000; Yudhastuti, 2005; Weraman, 2013).

D. Riwayat Sakit Malaria

Seseorang yang pernah mengalami sakit malaria yang telah sembuh secara klinis, tetapi di dalam tubuhnya masih terdapat parasit dalam jumlah sedikit sehingga tidak terdeteksi secara mikroskopis. Bila keadaan umum penderita menurun, parasit akan kembali berkembang biak dan kembali menjadi stadium skhisont, kemudian pecah. Keadaan ini akan berulang hingga akan kembali menderita (sakit). Jumlah parasit dalam darah yang dapat menimbulkan gejala lebih besar dari 200/mm³ darah.

Recrudescence relaps dapat terjadi $\pm 3 - 4$ bulan setelah sembuh.

Pada umumnya serangan *relaps* lebih ringan dari pada serangan *primair attack*. Pada penderita malaria tropika (*falciparum*) akan terjadi relaps yang sering pada bulan pertama setelah serangan pertama. Setelah 3 - 5 bulan makin lama makin jarang sampai akhirnya sembuh sama sekali. Relaps pada *P. falciparum* adalah short term relaps, karena *falciparum* tidak mempunyai siklus Ekso-Eritrositer sedangkan malaria *teriana (vivax)* mempunyai dua relaps yaitu short term relaps dan long term relaps. Short term relaps jarang terjadi berkisar 2 minggu setelah *primair attack* hingga dua bulan kemudian relaps akan jarang. 6 - 9 bulan kemudian relaps semakin sering diakibatkan siklus ekso-eritrositer (*long term relaps*).

Long term relaps hanya dapat terjadi pada natural infeksi, bila manusia mendapat infeksi dari satu *sporosoit* yang berasal dari vektor infeksi karena transfusi maupun lainnya relaps ini tidak dapat terjadi. Tidak semua penderita malaria akan menimbulkan relaps (*malaria tertiana*). Malaria kuartana (*malariae*) relaps sering terjadi pada 6 bulan pertama dan makin jarang pada semester selanjutnya, dan relaps *P. malariae* ini dapat terjadi dalam waktu yang lama sekali (pernah dilaporkan sampai 45 tahun).

Penderita dengan keluhan klinis mirip malaria sering dialami penduduk yang hidup di daerah non endemis, namun ada malaria import. Gejala malaria klinis seringkali baru timbul lama setelah penderita tertular penyakit ini, terutama pada infeksi dengan *P. vivax* dan *P. malariae*. Riwayat sakit penderita yang non imun terutama dengan perjalanan geografisnya di daerah endemis malaria harus dipelajari dengan seksama (Soedarto, 2011).

Riwayat penderita dimulai demam yang timbul bersamaan dengan pecahnya skizon darah yang mengeluarkan bermacam antigen. Antigen ini akan merangsang sel makrofag, monosit atau limfosit yang mengeluarkan berbagai macam sitokin, antara lain TNF (*tumor nekrosis factor*) dan IL-6 (*interleukin-6*) TNF dan IL-6 akan dibawa aliran darah ke hipotalamus yang merupakan pusat pengatur suhu tubuh dan terjadi demam. Proses skizogoni pada ke empat *Plasmodium* memerlukan waktu yang berbeda. *P. falciparum* memerlukan waktu 36-48 jam, *P. vivax* dan *P. ovale* 48 jam dan *P. malariae* 72 jam. Demam pada *P. falciparum* dapat terjadi setiap hari. *Plasmodium vivax/ovale* selang waktu satu hari, dan *P. malariae* demam timbul selang waktu 2 hari.

Anemia terjadi karena pecahnya sel darah merah yang terinfeksi maupun yang tidak terinfeksi. *P. vivax* dan *P. ovale* hanya menginfeksi sel darah merah muda yang jumlahnya hanya 2% dari seluruh jumlah sel darah merah, sedangkan *P. malariae* menginfeksi sel darah merah tua yang jumlahnya hanya 1% dari jumlah sel darah merah. Anemia yang disebabkan oleh *P. vivax*, *P. ovale* dan *P. malariae* umumnya terjadi pada keadaan kronis, sehingga anemia dapat terjadi pada infeksi akut dan kronis.

Soedarto (2011) mengemukakan bahwa gambaran klinis malaria sangat bervariasi bentuknya. Gejala klasik malaria antara lain adalah demam yang berulang, menggigil, nyeri sendi, sakit kepala, dan muntah-muntah. Skizon yang terdapat didalam darah yang pecah mengeluarkan berbagai alergen yang antigenik yang menyebabkan timbulnya respon *imun hospes*, dan merangsang sel limfosit, monosit dan makrofag untuk membentuk sitokin misalnya *tumor necrosis factor* (TNF)

yang bersama aliran darah mencapai hypothalamus yang merupakan pusat pengatur panas badan.

E. Riwayat Pengobatan Malaria

Pengobatan malaria yang pernah digunakan pada saat sakit malaria. Menurut (Kemenkes, 2011) menyebutkan bahwa pengobatan radikal malaria dengan membunuh semua stadium parasit yang ada didalam tubuh manusia termasuk stadium gametosit. Tujuan pengobatan radikal untuk mendapat kesembuhan klinis dan parasitologik dalam upaya memutuskan mata rantai penularan malaria. Pengobatan malaria yang tidak teratur dapat menyebabkan resistensi, untuk masyarakat modern yang sudah menggunakan obat anti malaria. Namun pada masyarakat yang belum mengenal obat-obatan yang terbuka sering menggunakan ramuan obat tradisional yang berasal dari tumbuhan yang diyakini dapat memberikan kesembuhan bagi penderita malaria (Kemenkes, 2011).

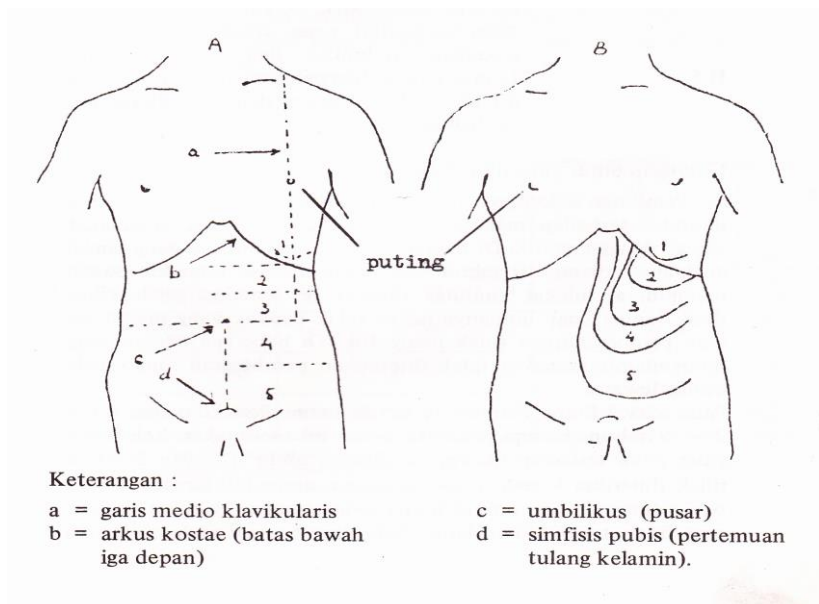
Pengobatan malaria hendaknya baru dilakukan sesudah diagnosis malaria dikomfirmasi melalui pemeriksaan laboratorium. Terapi presumtif tanpa diperkuat pemeriksaan laboratorium sebelumnya hanya dilakukan jika ada alasan kuat, misalnya gejala klinis meyakinkan penyakit sangat berat, pemeriksaan laboratorium tidak dimungkinkan. Sesudah diagnosis malaria ditegakkan dan dikonfirmasi, pengobatan sebaiknya dilakukan dengan memperhatikan tiga faktor utama, yaitu spesies *Plasmodium*, status klinis penderita dan kepekaan obat oleh parasit yang menginfeksi (Soedarto, 2011).

P. falciparum merupakan spesies parasit yang dapat menimbulkan penyakit berat bahkan menimbulkan kematian, sehingga perlu mendapatkan pengobatan yang

cepat, sedangkan spesies *P. vivax* dan *P. ovale* memerlukan pengobatan terhadap bentuk hipnozoit yang berada didalam sel hati yang menjadi penyebab timbulnya kekambuhan malaria *P. falciparum* dan *P. vivax* memiliki pola resistensi yang berbeda di daerah geografis yang tidak sama (Soedarto, 2011).

F. Pembesaran Limpa

Pembesaran limpa merupakan indeks malariometrik yang bermanfaat, yang ditentukan berdasarkan distribusi frekuensi berkisar lima kelas pembesaran limpa. Menurut Hackket pembesaran limpa berkisar dari kelas 1 (limpa tidak teraba sewaktu bernafas dalam) sampai kelas 5 dimana titik dibawah limpa teraba di *fossa iliaca* kanan. Berikut ini keterangan pembesaran limpa berdasarkan pemeriksaan palpasi dapat dilihat pada Gambar 2.10 berikut ini:



Gambar 4.10 Klasifikasi *Splenomegali* menurut Hackket

(Sumber: Greenwood *et al.*, 2008; Dachlan, 2010).

Tabel 4.2 Keterangan Gambar Pembesaran Limpa

Pembesaran Limpa	Keterangan
H 0	Limpa tidak teraba meskipun dengan pernapasan dalam
H 1	Limpa teraba pada pernapasan dalam
H 2	Limpa teraba pada pernapasan biasa, tetapi proyeksinya tidak melebihi garis horizontal yang ditarik melalui pertengahan arcus costae hingga umbilikus, yang diukur pada garis medio klavikularis kiri
Pembesaran Limpa	Keterangan
H 3	Limpa teraba di bawah garis horizontal yang melalui umbilikus
H 4	Limpa teraba di bawah garis horizontal yang melalui umbilikus tetapi tidak melewati garis horizontal yang ditarik melalui pertengahan umbilikus dan simfisis pubis
H 5	Limpa teraba di bawah garis horizontal yang ditarik melalui pertengahan umbilikus dan simfisis pubis

(Sumber: Dachlan, 2010; Soedarto 2011).

Tingkat endemisitas penyakit malaria di suatu daerah ditentukan oleh nilai *Spleen Rate* (SR) yang ada di daerah tersebut. WHO mengklasifikasikan daerah endemis menjadi 4 tingkatan yaitu: *holoendemic*, *hiperendemic*, *mesoendemic* dan *hipoendemic*. Klasifikasi daerah endemis menurut WHO (Dachlan, 2010) dapat dilihat pada tabel 4.3 berikut ini:

Tabel 4.3 Klasifikasi Daerah Endemis Berdasarkan Pembesaran Limpa

Nilai Spleen Rate Pada Golongan Umur 2 – 9 Tahun	Tingkat Endemisitas
0 – 10 %	<i>Hipoendemis</i>
11 – 50 %	<i>Mesoendemis</i>
> 50 % <i>Spleen rate</i> orang dewasa : tinggi	<i>Hiperendemis</i>
> 75 % <i>Spleen rate</i> orang dewasa : rendah	<i>Holoendemis</i>

(Sumber: WHO, Dachlan, 2010).

Pada infeksi tunggal malaria, limpa dapat membesar (*splenomegali*) tetapi dengan pengobatan yang adekuat limpa dapat mengecil kembali menjadi ukuran normal dalam waktu yang singkat. Bila infeksi malaria terjadi berulang-ulang tanpa diobati secara benar hingga limpa membesar, akan sulit kembali mengecil ke ukuran normal

Prevalensi pembesaran limpa (*spleen rate*) merupakan indikator penting untuk menentukan intensitas penularan malaria disuatu daerah. Untuk kepentingan studi epidemiologi malaria *spleen rate* perlu ditentukan ukuran rerata pembesaran limpa pada suatu komunitas (Soedarto, 2011). *Spleen Rate* (SR) adalah persentase dari orang yang membesar limpanya terhadap orang yang diperiksa dengan rumus sebagai berikut:

$$SR = \frac{\text{Jumlah anak (2 – 9 tahun) dengan limpa membesar}}{\text{Jumlah anak usia (2 – 9 tahun) yang diperiksa limpanya}} \times 100 \%$$

BAB 5

VARIASI STRUKTUR GENETIK

(Polimorfisme Genetik PfMSP-1)

A. Polimorfisme

Polimorfisme genetik adalah variasi struktur genetik dalam satu populasi untuk mengetahui aman tidaknya satu populasi. *Plasmodium falciparum* Merozoit Surface Protein (PfMSP-1) sebagai antigen pada fase eritroser, dapat dikembangkan menjadi vaksin malaria karena merupakan target utama dari respons imun (Kang *et al.*, 2010; Manyengue *et al.*, 2011; Moss *et al.*, 2012). Perubahan struktur genetik dipengaruhi oleh berbagai faktor ekologi, sehingga penanggulangan terhadap penyakit infeksi seperti malaria, perlu mempertimbangkan faktor ekologi dan sosial disamping manajemen kasus, *surveillance* dan pelayanan laboratorium (Soeswati *et al.*, 2007).

Kajian epidemiologi genetik khususnya perbedaan polimorfisme PfMSP-1 alel K1, MAD20, RO33 pada masyarakat tertutup dan terbuka di Kabupaten Buru

Selatan, mempertimbangkan berbagai variabel yang mempengaruhi *polimorfisme* yaitu karakteristik masyarakat, antara lain: umur, jenis kelamin, pendidikan dan jenis pekerjaan. Asumsi ini mengacu pada pendapat yang diungkapkan oleh Soeswati dkk (2007) bahwa faktor sosial seperti: pendidikan, status sosial ekonomi, perilaku, sikap, kebiasaan budaya, perpindahan dan kepadatan penduduk, mempengaruhi perubahan struktur genetik.

Modifikasi genetik dapat memicu terjadinya konformasional pada struktur polipeptida yang menghasilkan pengurangan situs reaktif yang tampak pada protein permukaan dan perbedaan tampilan situs tersebut terhadap sistem imun (Saalanve *et al*, 2007). Keragaman antigenik populasi *P. falciparum* di suatu daerah memegang peranan penting dalam pembentukan imunitas alamiah terhadap malaria. Keragaman genetik MSP-1 *P. falciparum* terutama dihasilkan dari peristiwa rekombinasi meiotik yang dipicu oleh adanya berbagai klon parasit yang menginfeksi vektor yang sama. Keragaman ini dapat mempengaruhi tingkat resistensi parasit terhadap obat anti malaria dan penyebarannya (Handayani *et al*, 2015).

Polimorfisme suatu gen dipengaruhi oleh mobilitas atau migrasi penduduk dari daerah endemik ke daerah non endemik atau sebaliknya. Migrasi orang didalam suatu daerah dan antar daerah dapat membawa populasi *P. falciparum* dengan alel berbeda ke dalam daerah tersebut sehingga terbentuk variasi genetik yang luas (Kong *et al*, 2010). Masyarakat tertutup dan masyarakat terbuka mempunyai kebiasaan yang berbeda. Masyarakat tertutup relatif tidak melakukan perjalanan ke daerah lain dan tidak mengunjungi tempat tinggal masyarakat terbuka. Masyarakat terbuka sebaliknya melakukan mobilitas ke berbagai daerah lain atau mengunjungi tempat tinggal

yang memiliki kemungkinan merupakan daerah endemis malaria.

Riwayat sakit malaria diperoleh dari kedua komunitas yaitu masyarakat tertutup dan masyarakat terbuka, diperlukan untuk mengetahui kondisi malaria yang bersifat kronis dan akut. Riwayat sakit malaria ditentukan berdasarkan pemeriksaan fisik (anamnesa) dan pemeriksaan laboratorium dengan *Rapid Diagnostic Test* (RDT). Peralatan yang tersedia untuk mendiagnosis malaria dengan melakukan pemeriksaan mikroskopis *Rapid Diagnostic Test* (RDTs) dan *nucleid acid detection test* (Bronzan *et al.*, 2008; Chiodin *et al.*, 2014). Deteksi parasit melalui pemeriksaan sampel darah untuk diagnosis malaria merupakan metode yang relatif sederhana. Rerata sensitifitas berkisar 50 – 100 parasit per microliter (Wongsrichanalai *et al.*, 2007; Iglesias *et al.*, 2014). Pemeriksaan RDT ini penting dilakukan, untuk menentukan jenis spesies *Plasmodium* malaria yang diderita oleh kedua kelompok masyarakat tertutup dan masyarakat terbuka di Kabupaten Buru Selatan.

Polimorfisme dipengaruhi oleh riwayat pengobatan, resistensi obat malaria menyebabkan terjadinya variasi struktur genetik didalam suatu populasi. Keragaman yang relatif tinggi ini juga merupakan konsekuensi dari menurunnya efikasi pengobatan akibat meluasnya resistensi obat (Zakeri *et al.*, 2005). Riwayat pengobatan baik berupa obat tradisional ataupun obat yang berasal dari program pengobatan malaria, yang digunakan oleh kedua masyarakat tertutup dan masyarakat terbuka dalam pengobatan malaria bertujuan untuk mengetahui efek pengobatan terhadap penderita malaria yang pernah mengkonsumsi obat *Artemisinin Combination Therapy*

(ACT). Obat malaria yang diberikan mengalami perubahan akibat resistensi terhadap obat.

Laporan resistensi pengobatan malaria terhadap obat lama (klorokuin, sulfadoksin - pirimetamin dan kina) dalam 10 tahun terakhir, terjadi lebih dari 25% propinsi di Indonesia. Strategi pengobatan malaria yakni dengan penggunaan obat ACT (*artemisinin base combination treatment*), sejalan dengan pedoman WHO dimana secara global pengobatan malaria sudah dianjurkan untuk berubah dengan penggunaan obat ACT (Harijanti, 2011). Masyarakat tertutup mempunyai kebiasaan menggunakan obat secara tradisional yang berasal dari tumbuhan di hutan. Obat tradisional yang digunakan juga dapat mempengaruhi terjadinya polimorfisme genetik PfMSP-1.

Resistensi parasit terhadap obat anti malaria dapat menyebabkan mutasi genetika dan dapat menyebabkan polimorfisme genetika. Variabel ini tidak dimasukkan dalam analisis penelitian. Perubahan polimorfisme genetik dilakukan dengan cara PCR. Pola spesifik yang berbeda pada masyarakat tertutup dan terbuka untuk menentukan daerah endemisitas, hiperendemik, holo endemik dan mesoendemik. Pemeriksaan fisik terhadap kemungkinan ditemukan pembesaran limpa, dilakukan dengan dengan metode hakket. Pembesaran limpa yang berhubungan dengan kejadian malaria pada kedua kelompok masyarakat tertutup dan terbuka dilakukan dengan cara palpasi untuk menentukan positif pembesaran limpa.

Deteksi *P. falcifarum* untuk melihat adanya polimorfisme dilakukan dengan RDT, mikroskopis dan PCR. Identifikasi *P. falciparum* dan pemeriksaan diversitas genetika PfMSP-1 pada kedua kelompok masyarakat tertutup dan terbuka, dimaksudnya untuk mendapatkan pola spesifik yang berbeda pada dua

kelompok masyarakat tersebut. Kebaruan penelitian ini adalah mengungkapkan perbedaan polimorfisme alel K1, MAD20 dan RO33 *Plasmodium falciparum* Merozoit Surface Protein-1 (PfMSP-1) pada masyarakat tertutup dan masyarakat terbuka di Kabupaten Buru Selatan Provinsi Maluku.

B. Deskripsi Malaria di Kabupaten Buru

Buru Selatan merupakan Kabupaten pemekaran dari Kabupaten Buru. Berdasarkan Undang-Undang Nomor 32 Tahun 2008 tentang pemekaran Kabupaten Buru Selatan dengan Ibu Kota Namrole memiliki Luas wilayah 6.723 km² dengan jumlah penduduk sebanyak \pm 71.942 jiwa. Komposisi penduduk terdiri dari suku asli yang berasal dari Pulau Ambalau dan pendatang yang kebanyakan berasal dari Suku Buton dan Bugis. Secara administratif Kabupaten Buru Selatan terdiri dari 5 (lima) Kecamatan yaitu: 1) Kecamatan Namrole; 2) Kecamatan Leksula; 3) Kecamatan Waesama; 4) Kecamatan Kepala Madang dan 5) Kecamatan Pulau Ambalau.

Secara geografis Kabupaten Buru Selatan berbatasan dengan: Sebelah Utara dengan Kabupaten Buru dan Laut Seram, sebelah selatan dengan Laut Banda, sebelah Barat berbatasan dengan Laut Banda, dan sebelah Timur dengan Kabupaten Buru dan Selat Manipa. Secara astronomis Kabupaten Buru Selatan terletak antara 23° LS - 50° LS dan 125° BT - 127° BT. Daerah penelitian mencakup areal seluas 5.060 km², penyebaran terluasnya (93,95% dari luas kabupaten) berada pada Pulau Buru sedangkan luas 6,05% sisanya berada pada Pulau Ambalau.

Berdasarkan Badan Meterologi, Klimatologi dan Geofisika (BMKG) Kabupaten Buru Selatan (2014), kondisi iklim pada periode musim hujan berlangsung

selama lima bulan yakni mulai dari bulan Desember sampai dengan Maret dan Juli. Kabupaten Buru Selatan memiliki curah hujan tahunan rerata 1226,1 mm. Suhu udara rerata bulanan berkisar antara 25,9°C terjadi pada bulan Juli dan Agustus sedangkan pada bulan April berkisar 28.3°C. Suhu maksimum terendah terjadi pada bulan Juli (31,1°C) dan tertinggi pada bulan Nopember (33,4°C). Sedangkan suhu minimum terendah terjadi pada bulan Juli (22,3°C) dan tertinggi terjadi pada bulan desember (24,3°C).

Malaria di Kabupaten Buru Selatan masih merupakan ancaman bagi penduduk yang tinggal di daerah pegunungan dan daerah kepulauan. Malaria menyerang semua golongan umur dan menyebabkan kematian. Intervensi program malaria melalui program *Global Fund Aids, TBC* dan Malaria (GF-ATM) sementara dilakukan dengan penemuan penderita malaria secara aktif (*Active Case Detection*). (Dinkes Provinsi Maluku, 2014)

Terdapat perbedaan karakteristik masyarakat Tertutup dan Terbuka di Kecamatan Namrole Kabupaten Buru, yang menyebabkan polimorfisme genetica PfMSP-1 alel K1, MAD20, RO33 *P. Falcifarum*. Berikut ini karakteristik yang membedakan kedua kelompok masyarakat tersebut meliputi umur, jenis kelamin dan jenis pekerjaan.

Tabel 5.1 Karakteristik Masyarakat Tertutup dan Terbuka di Kecamatan Namrole Kabupaten Buru Selatan

Karakterististik	Kelompok Masyarakat	
	Tertutup	Terbuka
Umur	f (%)	f (%)
0-10 tahun	33 (55)	39 (57.4)
11-20 tahun	6(10,0)	9 (23,2)

21-30 tahun	10(16,7)	9 (13,2)
31-40 tahun	4 (6,7)	7 (10,3)
41-50 tahun	5(8,7)	4 (9,5)
≥ 51tahun	2(3,3)	
Total	60 (100)	68 (100)
Jenis Kelamin	f (%)	f (%)
Laki-laki	29 (48,3)	31 (45,6)
Perempuan	31 (51,7)	37 (54,4)
Total	60 (100)	68 (100)
Jenis Pekerjaan	f (%)	f (%)
Pedagang	3 (5,0)	1 (1,5)
Petani	18 (30,0)	10 (14,7)
Belum bekerja	36 (60,0)	46 (67,6)
Berburu	3 (5,0)	4 (5,9)
PNS		3 (4,4)
Ibu Rumah Tangga		3 (4,4)
Nelayan		1 (1,5)
Total	60 (100)	68 (100)

Tabel diatas dapat dilihat bahwa berdasarkan karakteristik umur terbanyak responden berumur 0 – 10 tahun sebanyak 55% pada masyarakat tertutup dan 57,4% pada masyarakat terbuka. Berdasarkan jenis kelamin terbanyak adalah perempuan sebesar 51,7% pada masyarakat tertutup dan 54,4% pada masyarakat terbuka. Berdasarkan pendidikan mayoritas responden penelitian bersekolah sebanyak 95% pada masyarakat tertutup dan 76,5% pada masyarakat terbuka. Berdasarkan jenis pekerjaan terbanyak belum bekerja sebesar 60% pada masyarakat tertutup dan 46% pada masyarakat terbuka.

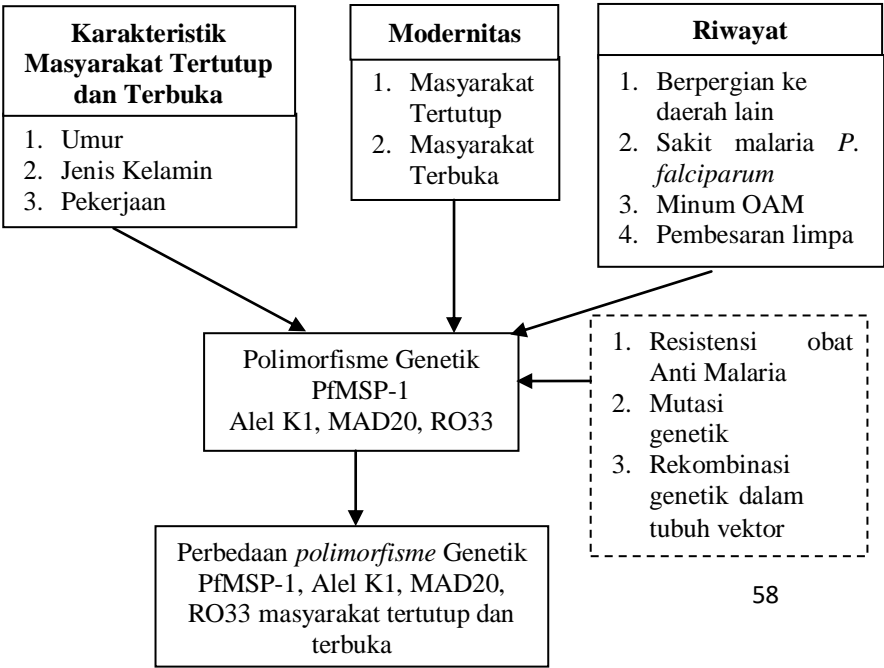
C. Faktor yang berhubungan dengan Polimorfisme Genetik

Polimorfisme sebagai perubahan bentuk gen yang bervariasi. Variasi urutan DNA yang umum terjadi pada populasi. Polimorfisme bukan mutasi, perbedaan antara

mutasi dan polimorfisme adalah apabila alel paling umum harus mempunyai frekwensi 1% atau lebih pada populasi. Jika frekwensinya lebih rendah maka alel ini dianggap mutasi. Perubahan tersebut dipengaruhi oleh berbagai faktor yang berhubungan seperti lingkungan, nutrisi dan sebagainya.

Di negara Asia dan Afrika, resistensi atau kerentanan malaria falcifarum dipengaruhi oleh polimorfisme gen sistem imunitas, tetapi pada malaria vivax belum diketahui pengaruhnya. Di daerah endemis malaria, kemampuan parasit malaria berhubungan dengangen manusia. Penyakit malaria diperparah oleh adanya parasitemia, inflamasi oleh parasit, anemi dan eritrosit yang mengandung parasit masuk ke dalam pembuluh darah otak (Wahyuni, 2018).

Oleh karena banyak faktor yang dapat memengaruhi polimorfisme, maka diasumsi bahwa polimorfisme pada masyarakat tertutup dan terbuka dipengaruhi oleh berbagai faktor berikut ini.



Gambar 5.1 Polimorfisme *Plasmodium. Falciparum*
Merozoit Surface Protein-1 (PfMSP1) alel K1,
MAD20, RO33

Untuk membuktikan kebenaran asumsi ini, dilakukan pengumpulan data berupa sampel 60 orang kelompok masyarakat tertutup dan 68 orang kelompok masyarakat terbuka. Faktor risiko seperti riwayat berpergian ke daerah lain, riwayat sakit malaria *P. Falciparum*. Riwayat minum obat anti malaria dan pembesaran limpa, ditunjukkan tabel berikut:

Tabel 5.2 Faktor yang Berhubungan dengan Kejadian Malaria pada Masyarakat Tertutup dan Terbuka

Faktor Risiko Kejadian Malaria	Kelompok Masyarakat	
	Tertutup (%)	Terbuka (%)
Riwayat Berpergian		
Tidak ada riwayat berpergian	52(86,7)	46 (67,6)
Ada riwayat berpergian	8 (13,3)	22 (32,3)
Total	60 (100)	68 (100)
Riwayat Sakit Malaria		
Tidak ada riwayat sakit malaria	35 (58,3)	21 (30,9)
Ada riwayat sakit malaria	25 (41,7)	47 (69,1)
Total	60 (100)	68 (100)
Riwayat Minum Obat Anti Malaria		
Tradisional	2 (3,3)	0
ACT	0	20 (29,4)
Tidak diobati	58 (96,3)	48 (70,6)
Total	60 (100)	100 (100)

Splenomegali		
Ada Splenomegali	7 (11,7)	3 (4,41)
Tidak ada Splenomegali	53 (88,3)	65 (95,59)
Total	60 (100)	68 (100)

Tabel 5.2 dapat dilihat bahwa berdasarkan faktor berhubungan dengan polimorfisme berdasarkan riwayat bepergian ke daerah lain pada masyarakat tertutup mayoritas tidak melakukan aktivitas bepergian sebesar 86,7% demikian pula pada masyarakat terbuka mayoritas tidak bepergian sebesar 67,6%. Riwayat sakit malaria mayoritas tidak ada riwayat sakit malaria sebesar 58,3% pada masyarakat tertutup, berbeda dengan pada masyarakat terbuka mempunyai riwayat sakit malaria sebesar 69,1%. Berdasarkan riwayat pengobatan sebagian besar tidak minum obat anti malaria sebesar 96,3% pada masyarakat tertutup demikian juga pada masyarakat terbuka ditemukan sebesar 70,6% juga tidak minum obat anti malaria. Berdasarkan pemeriksaan fisik splenomegali, mayoritas tidak ada splenomegali sebesar 88,3% pada masyarakat tertutup demikian juga tidak ditemukan splenomegali sebesar 68% pada masyarakat terbuka.

Berdasarkan hasil identifikasi diperoleh sampel sebanyak 21 yang dinyatakan positif infeksi *P. falciparum*, *P. vivax* dan Mix (infeksi campuran dari 128 responden yang diperiksa dengan RDT dan konfirmasi mikroskop. Sampel yang positif selanjutnya dianalisis dengan pemeriksaan *single step* PCR pada analisis berikutnya. Identifikasi spesies *Plasmodium*, kemudian di konfirmasi dengan tanda dan gejala klinis malaria dengan anamnesa. Tabel berikut ini menjelaskan karakteristik responden penelitian berdasarkan hasil pengamatan, dan pemeriksaan fisik meliputi; palpasi limpa dengan metode hakket,

riwayat sakit malaria, tanda dan gejala malaria, riwayat minum obat anti malaria dan riwayat bepergian ke daerah lain dengan pemeriksaan mikroskopis yang dinyatakan positif malaria *P. falciparum*, tampak pada Tabel 5.3 berikut ini :

Tabel 5.3 Karakteristik Subyek Berdasarkan Gejala, Riwayat Sakit Malaria, Riwayat Minum Obat Anti Malaria, Pembesaran Limpa dan Riwayat Bepergian Ke Daerah Lain pada Masyarakat Tertutup

No. Sampel	Umur (Thn)	Gejala yang ada	Riwayat Sakit Malaria	Spleenomegali	Riwayat Minum OAM	Riwayat Berpergian ke daerah lain
27	2	Panas, dingin	(-)	(-)	(-)	(-)
28	2	Panas, dingin	(-)	(-)	(-)	(-)
30	3	Panas	(-)	(-)	(-)	(-)
31	7	Demam	(-)	(-)	(-)	(-)
32	11	Demam, mual, sakit kepala	(-)	(-)	(-)	(-)
42	8	Demam	(-)	(-)	(-)	(-)
60	5	Panas	(-)	(-)	(-)	(-)

Keterangan :

(-) : Sampel yang dinyatakan Negatif

(+): Sampel yang dinyatakan Positif

Responden yang menderita malaria pada masyarakat tertutup berdasarkan temuan di lapangan sebagian besar terjadi pada anak-anak tanpa ada riwayat sakit malaria sebelumnya, gejala yang tampak pada saat penelitian bukan merupakan gejala khas malaria (panas menggigil dan berkeringat). Splenomegali positif dan ditemukan 1 responden memiliki riwayat berpergian ke daerah lain.

Tabel 5.4 Karakteristik Subyek Berdasarkan Gejala, Riwayat Sakit Malaria, Riwayat Minum Obat Anti Malaria, Pembesaran Limpa dan Riwayat Berpergian Ke Daerah Lain pada Masyarakat Terbuka

No. Sampel	Umur (Thn)	Gejala yang ada	Riwayat Sakit Malaria	Splenomegali	Riwayat minum OAM	Riwayat Berpergian ke daerah lain
63	25	Panas, Dingin	1thn terakhir	(+)	Tidak teratur	Ya
85	9	Panas, Dingin	6 bln terakhir	(+)	(-)	(-)
87	5	Demam	3 bln terakhir	(+)	(-)	(-)

Keterangan :

(-) : Sampel yang dinyatakan Negatif

(+) : Sampel yang dinyatakan Positif

Responden yang menderita malaria pada masyarakat terbuka ditemukan pada 2 orang anak dan 1 orang dewasa, yang memiliki riwayat sakit malaria yang bukan gejala khas malaria, gejala yang tampak pada saat

dilakukan penelitian merupakan gejala umum panas dan demam, ketiga responden positif splenomegali. Responden dengan umur 25 tahun memiliki riwayat berpergian ke daerah lain dan riwayat minum obat anti malaria yang tidak teratur.

BAB 6

PROSEDUR PEMERIKSAAN PCR

A. Prosedur Pengumpulan Data

Pengambilan data dilakukan dengan dua tahap, yaitu melakukan survey yang meliputi karakteristik masyarakat tertutup dan terbuka secara umum, kemudian pengumpulan data khusus berupa pemeriksaan laboratorium dengan menggunakan sampel darah. Berikut ini tabel 6.1 menjelaskan prosedur pengambilan data.

B. Instrumen yang digunakan

Alat yang digunakan untuk mengumpulkan data berupa kuesioner tertutup untuk mengukur variabel: karakteristik responden, modernitas, riwayat sakit malaria, riwayat minum obat dan mobilitas penduduk (migrasi). Berikut instrumen yang digunakan dalam penelitian:

1. Kuesioner karakteristik responden penelitian

Variabel karakteristik umur, jenis kelamin, pendidikan dan pekerjaan diukur menggunakan kuesioner berupa kuesioner.

2. Kuesioner riwayat sakit malaria

Variabel riwayat sakit malaria diukur menggunakan instrumen berupa kuesioner tertutup meliputi pertanyaan: keluhan dan tanda gejala yang dirasakan, riwayat mengalami sakit malaria dalam kurun waktu 1 tahun terakhir.

3. Kuesioner riwayat minum obat

Instrumen riwayat minum obat diukur menggunakan kuesioner tertutup meliputi komponen: menggunakan obat anti malaria, mendapat obat anti malaria dari petugas kesehatan, minum ramuan anti malaria setta cara yang dilakukan untuk mengatasi penyakit malaria.

4. Kuesioner migrasi penduduk

Instrumen untuk mengukur perpindahan penduduk, diukur dengan kuesioner tertutup antara lain: kebiasaan berpergian ke daerah lain dan pernah tinggal/menetap di daerah lain.

5. Pembesaran limpa diukur dengan metode hakket, dilakukan dengan palpasi pada daerah abdomen. Palpasi dilakukan dengan jari.

6. Pengukuran sampel darah dilakukan di laboratorium. Berikut alat dan bahan penelitian yang digunakan di laboratorium sebagai berikut :

a. Alat Penelitian

Alat yang digunakan adalah *Rapid Diagnostic Test* (RDT) untuk identifikasi spesies *plasmodium*.

b. Bahan Penelitian

Pengambilan sampel darah, pembuatan hapusan darah tipis dan tetes tebal

dengan menggunakan pewarnaan *Giemsa* adalah:

- 1) Kapas alkohol 70 %
- 2) Kapas kering
- 3) Larutan Gemesa

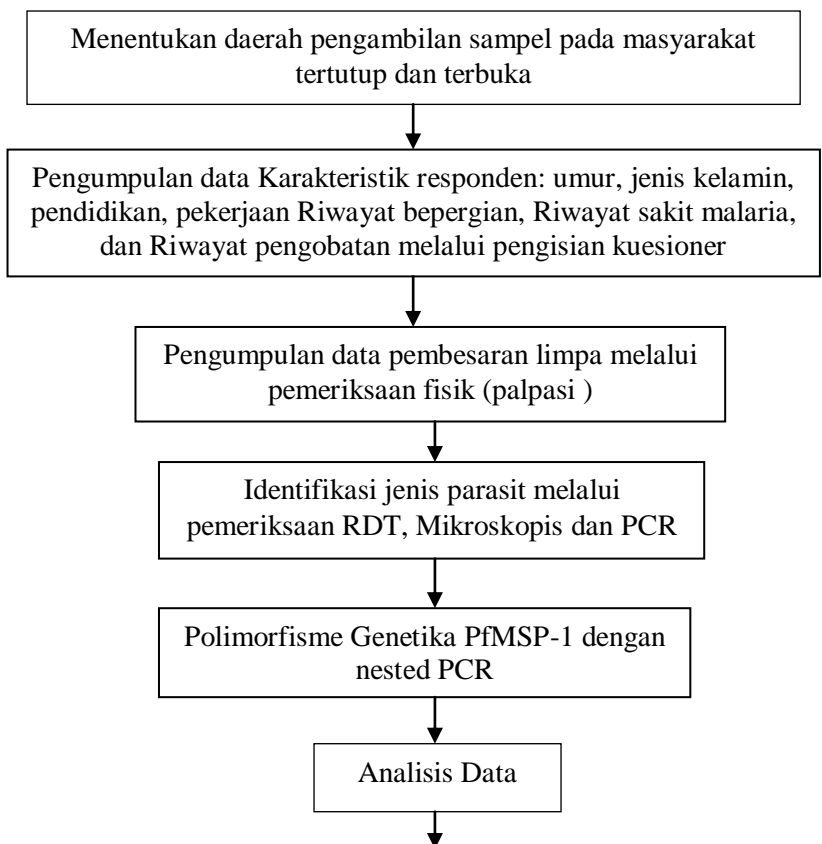
- 4) Buffer fosfat pH 7,2
 - 5) Ethanol
 - 6) Air pembilas
 - 7) Blood Spot
- c. Bahan untuk isolasi DNA dengan Qiagen DNA *blood* (Qiagen, inc). Bahan – bahan yang terdapat dalam QIAamp mini kit, *Blood Spot*, PCR mix (Reagen PCR), Primer MSP untuk *P. falciparum*, Masker DNA, Tips mikro pipet, Taq. PCR, *Sentrifuge*, gel agarose, ethidin Bromide, TBE (*Tris Borat* EDTA).

C. Alur Pengumpulan Data

Langkah pelaksanaan penelitian, diawali dengan mengurus izin penelitian, mencatat data yang diperlukan, kemudian mempersiapkan pengumpulan data awal mengukur variabel: karakteristik responden, variabel riwayat berpergian, riwayat sakit malaria, riwayat minum obat dan pembesaran limpa. Berikut langkah pelaksanaan penelitian secara rinci diperlihatkan pada gambar prosedur penelitian dibawah ini:

Sampel darah diperoleh dari masyarakat tertutup dan terbuka yang diperoleh secara *purposive* yang dicurigai memiliki gejala klinis malaria, darah diambil dari pembuluh darah vena sebanyak 1 ml dilakukan deteksi dengan RDT untuk identifikasi parasit, kemudian membuat sediaan darah berupa hapusan darah tipis dan tetes tebal untuk deteksi dan identifikasi mikroskopis dan *blood spot* pada *filter paper* untuk isolasi DNA parasit di Kecamatan Namrole Kabupaten Buru Selatan. Kerangka operasional penelitian digambarkan pada gambar berikut ini:

Skema Operasional



Gambar 6.1 Kerangka Operasional Pengumpulan Data

D. Identifikasi Spesies *Plasmodium* Menggunakan RDT, Mikroskopis, Single Step PCR dan Diversitas Genetika PfMSP-1

1. Identifikasi spesies *Plasmodium* menggunakan RDT

Sampel yang diambil di tempat tinggal penderita, diagnosis dilakukan dengan *rapid diagnostic test* (RDT) kemudian secara mikroskopis (Arwati, 2013). Darah diambil dengan menggunakan pipet RDT dalam kolom RDT kemudian serum yang tersedia ke dalam kolom RDT, hasil dapat dilihat pada skala yang tertera pada RDT untuk menentukan jenis *Plasmodium* (*P. Vivax*, *P. falciparum* dan Mix) sebagai berikut:

1. Jika hasil pemeriksaan menunjukkan “C” maka kesimpulan negatif (tidak ditemukan plasmodium).
2. Jika hasil pemeriksaan menunjukkan “C1” maka kesimpulan positif (*P.vivax*)
3. Jika hasil pemeriksaan menunjukkan “C2” maka kesimpulan positif (*P. falciparum*).
4. Jika hasil pemeriksaan menunjukkan skala “C1 dan C2” maka kesimpulan positif (*mix*) infeksi campuran.

Sampel berasal dari dua kelompok masyarakat tertutup dan terbuka sebanyak 128 sampel yang dilakukan pemeriksaan darah untuk Identifikasi spesies *Plasmodium*. sampel atau responden yang diambil berdasarkan kriteria inklusi. Alat yang digunakan untuk mendeteksi jenis spesies *Plasmodium* secara cepat untuk penegakkan diagnostik adalah Rapid Diagnostic Test

(RDT). Hasil pemeriksaan darah menunjukkan bahwa responden yang dideteksi dengan pemeriksaan RDT sebanyak 21 orang, terdiri ; 12 orang *P. falciparum* , 6 orang *P.vivax* dan infeksi campuran (mix) sebanyak 3 orang.

2. Identifikasi spesies *plasmodium* menggunakan mikroskopis

Diagnosis pasti malaria ditegakkan dengan sediaan darah tipis dan tebal yang diwarnai dengan Giemsa 10% dan diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya untuk mendeteksi parasit malaria (WHO, 2010). Pemeriksaan malaria secara mikroskopis adalah pemeriksaan sediaan darah (SD) tetes tebal dan apusan darah tipis, dengan pewarnaan Giemsa. Pemeriksaan dilakukan dengan mikroskop pembesaran okuler 10 kali dan objektif 100 kali menggunakan minyak imersi. Sediaan darah tebal ditujukan untuk mengidentifikasi parasit secara cepat dan menghitung jumlah parasit, sedangkan SD tipis untuk melihat morfologi (jenis dan stadium) parasit lebih detail.

Hasil pemeriksaan darah yang teridentifikasi dengan RDT sebanyak 21 orang, kemudian dikonfirmasi dengan pemeriksaan mikroskopis untuk melihat spesies *Plasmodium* dengan menggunakan pembesaran 100 LP. Dari hasil pemeriksaan juga ditemukan jenis spesies *plasmodium* sebanyak 21 orang, dengan rincian *P. falciparum* 12 orang *p.vivax* 6 orang dan infeksi campuran (mix) sebanyak 3 orang. Hasil identifikasi dengan RDT maupun mikroskopis menunjukkan hasil sensitifitas dan spesifisitas yang sama, namun kelebihan dari pemeriksaan mikroskopis adalah mampu melihat stadium dari masing-masing jenis spesies

Plasmodium. Hasil pemeriksaan kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan dengan teknologi biologi molekuler menggunakan *single step* PCR.

3. Identifikasi *P. falciparum* dengan menggunakan *single step* PCR

1. Persiapan

Isolasi DNA dari *blood spot* menggunakan Qiamp DNA Kit untuk mendeteksi spesies parasit antara lain :
1) *sentrifuge* disiapkan dengan temperatur 15-25°C. 2) *water bath* diset pada suhu 85°C untuk step 2. 3) *water bath* diset pada suhu 56°C untuk step 3. 4) *water bath* diset pada suhu 70°C untuk step 4, *qualibrate Buffer* AE atau *distilled water* pada *room* temperatur 15°C - 25°C untuk elusi pada step 10, *Buffer* AW 1 dan AW2 disimpan pada RT, apakah sudah dicampur dengan ethanol 96% seperti tertera pada label botol.

2. Isolasi DNA dari *blood spot*

Blood spot dipotong dengan *paper puncher* sebanyak 6 lingkaran, dimasukan 6 *blood spot* tersebut ke dalam tabung 1.5 ml, ditambahkan 180 µl *Buffer* ATL, selanjutnya dilakukan proses inkubasi pada suhu 85°C selama 10 menit kemudian dilakukan *spin down*, ditambahkan 20 µl *protenase K* stock solution, vortex, inkubasi pada 56°C selama 1 jam kemudian dilakukan *spin down*. Langkah selanjutnya ditambahkan 200 µl *buffer* AL, vortex, diinkubasi pada suhu 70°C selama 10 menit dilakukan *spin down*, ditambahkan 200 µl *buffer* µl ethanol (96-100%), vortex dan dilakukan *spin down*, menyiapkan *spin column*.

Sampel campuran diatas dimasukkan ke dalam *spin column* dengan tabung di bawahnya. Sampel diusahakan tidak sampai membasahi pinggiran *column*,

Column ditutup, *sentrifuge* pada 6000 x g atau 8000 rpm selama 1 menit, *Column* tersebut diletakkan diatas tabung. *Column* dibuka, ditambahkan 500 µl *Buffer* AW1 diusahakan tidak membasahi pinggiran *column*, kemudian *column* ditutup, selanjutnya dilakukan *sentrifuge* pada 6000 x g atau 8000 rpm selama 1 menit, *column* dipindahkan ke atas tabung 2 ml yang baru, dan buang tabung yang mengandung filtrat. *Column* di buka dan ditambahkan 500 µl *Buffer* AW2, jangan sampai membasahi pinggiran *column*, selanjutnya *column* ditutup, *sentrifuge* pada 20.000 x g atau 14.000 rpm selama 1 menit.

Column diletakkan pada tabung 1,5 ml, ditambahkan 150 µl *Buffer* AE atau air steril di inkubasi pada RT (15-25°C) selama 1 menit, *sentrifuge* pada 6000 x g atau 8000 rpm selama 1 menit, *column* dipindahkan ke atas tabung 2 ml yang baru dan tabung yang mengandung filtrat di buang, *column* dibuka dan tambahkan 500 µL *buffer* AW2 jangan sampai membasahi pinggiran *column*, *sentrifuge* selama 20.000 x g atau 14.000 rpm selama 3 menit. Jika diperlukan *sentrifuge* lagi dengan tabung baru pada 20.000 x g atau 14.000 rpm selama 1 menit. *Column* diletakkan pada tabung 1.5 ml tambahkan 150 µL *buffer* AE atau air steril, dilakukan inkubasi pada RT (15-25°C) selama 1 menit, *sentrifuge* pada 6000 x g atau 8000 rpm selama 1 menit.

3. *Single step* PCR

Deteksi parasit dengan PCR menggunakan metode *single step* PCR (Patsoula *et al*, 2002). Primer yang digunakan untuk deteksi spesies parasit adalah berdasarkan *sequence small sub unit ribosomal RNA*

(ssrRNA) dari *P. viva* dan *P. falciparum* sebagai berikut:

Tabel 6.1 Primer untuk Identifikasi Spesies *Plasmodium*

<i>Primer Name</i>	<i>Sequence</i>	<i>Product Size (bp)</i>	<i>Penentuan</i>
PL3	5ATG GCC GTT TTT AGT TCG TG3		<i>P.vivax</i> , <i>P.falciparum</i>
PL4	5GGA AAC GGT ACG ATA AGC CA3	266	<i>P. vivax</i>
PL5	5ACG CGT GCA GCC TAGTTT AT3	346	<i>P. falciparum</i>

Sumber: Patsoulat *et al*, (2003).

PL3 adalah *sequens* umum gen rRNA dari *P. falciparum* dan *P. vivax* untuk nukleotida 1390–1409 dan 1427–1446. Primer PL4 spesifik untuk *P. vivax*, nukleotida 1636–1655, dan PL5 spesifik untuk *P. falciparum*, nukleotida 1753–1772. Primer PL3 dan PL4 memberikan pita berukuran 266 bp spesifik untuk *P. vivax*. Primer PL3 dan PL5 memberikan pita berukuran 346 bp spesifik untuk *P. falciparum*.

Reaksi PCR untuk deteksi spesies *Plasmodium* dibuat dalam volume total 20µl dengan 2x master mix

PCR, 10 pmol primer PL3, PL4 dan PL 5, dan 5 µl DNA template. Kontrol pembanding *P. falciparum* menggunakan DNA dari biakan *P. falciparum in vitro* (Arwati *et al*, 2013). Kondisi PCR berdasarkan Patsoula *et al*, (2002) dengan optimasi beberapa kali untuk menghasilkan *band* (pita) yang jelas. Denaturasi awal 94°C 5 menit, denaturasi 94°C 30 detik, *annealing* 55°C 30 detik, *extention* 72°C 30 detik, terakhir 72°C 10 menit *elongation* dan sebanyak 40 *cycles*. Produk PCR kemudian dielektroforesis pada 2% agarose dengan 0.5mg/ml ethidium bromide, divisualisasi dan difoto di bawah sinar UV. Suhu *annealing* dinaikkan menjadi 56°C dan 57°C untuk memperoleh *band* yang jelas. Hasil isolasi DNA dari koleksi sampel yang diperoleh dari lapangan berupa sampel yang dinyatakan positif melalui hasil *screening* di ekstraksi dalam bentuk DNA. Sampel dalam bentuk DNA kemudian dilakukan pemeriksaan dengan teknik biolektur untuk memastikan sampel yang positif infeksi *P. falciparum* dan negatif. Komposisi yang digunakan sebagai berikut: 5 x phu *buffer* 4 µl, dNTP 2 µl, Primer F, 1µl, Primer R 1µl, Enzim DNA Polimerase 1µl, DW 7µl dan digunakan DNA sampel 5µl.

4. Elektroforesis hasil PCR

a. Pembuatan gel agarose 1%

Diambil 4 gr gel agarose dipanaskan pada *microwave* hingga larut, 49 ml TBE dipanaskan pada *microwave* sampai larut, disiapkan cetakan elektroforesis kemudian dituang gel agarose yang sudah larut, kemudian memasang sisir dan tunggu sampai gel mengeras \pm 1 jam.

b. Elektroferosis

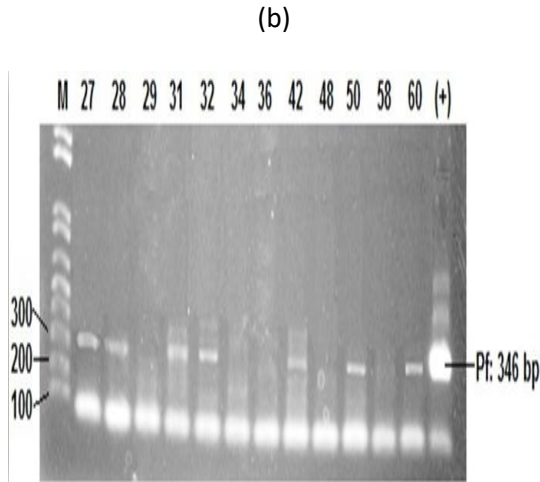
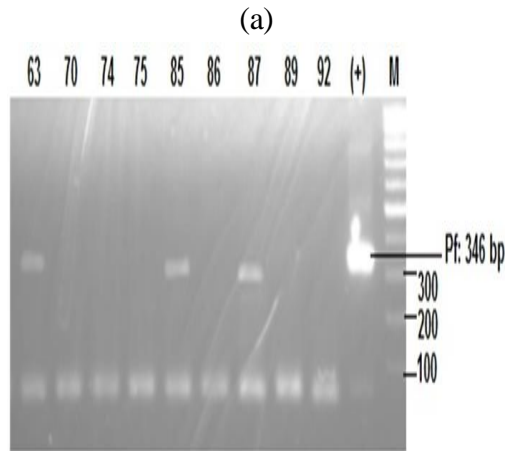
Gel dimasukkan ke dalam bak ELP yang sudah berisi TBE dengan mencampur produk PCR 3 µl

dengan loading *buffer* 1 µl di atas kertas para film dengan memakai *micro* pipet 10µl. Produk PCR Sampel dimasukkan ke dalam sumuran dalam gel (sumuran no 2). Dilakukan hal yang sama dengan produk PCR sampel yang lain, sumuran nomor urut 1 diisi 4 µl marker, kemudian dihidupkan mesin ELP, diatur tegangan menjadi 100 volt dengan waktu 30 menit. Sampel ditunggu sampai mencapai baris kedua dari bawah, selanjutnya mesin ELP dimatikan.

c. Dokumentasi

Cetakan gel diambil dari bak ELF kemudian letakan diatas gel ninja. Kamera kemudian dihidupkan selanjutnya alat gel ninja dihidupkan. Foto/dokumentasikan dengan kamera. *Product PCR* selanjutnya disimpan pada suhu -20°C.

Sebanyak 21 Sampel yang diperoleh dari kedua pemeriksaan RDT maupun mikroskopis dikomnfirmasi dengan pemeriksaan *single step* PCR menggunakan 3 (tiga) primer PL3, PL4 dan PL5. Hasil *single step* PCR tersebut diperoleh sampel positif malaria *P. falciparum* sebanyak 10 dengan rincian; 7 sampel yaitu, nomor; 27, 28, 31, 32, 42, 50, 50 untuk sampel yang berasal dari masyarakat tertutup dan 3 sampel yang berasal dari masyarakat terbuka. Sampel yang dinyatakan positif malaria *P.falciparum* yaitu, nomor; 63, 85 dan 87. Kontrol positif sebagai pembanding adalah DNA yang berasal kultur *P. falciparum* invitro. Dari pemeriksaan PCR diperoleh pita DNA berukuran 346 bp (*base pair*) seperti tampak pada hasil identifikasi spesies *Plasmodium* dengan *single step* PCR tercantum pada Gambar 6.1 berikut:



Gambar 6.1 Identifikasi spesies *P. falciparum* (a). pada masyarakat Tertutup dengan menggunakan metode *single step* PCR. Sampel yang dinyatakan positif adalah sampel nomor; 27, 28, 31, 32 42, 50 dan 60. Sedangkan (b) pada masyarakat Terbuka adalah sampel nomor; 63, 85 dan 87 M: Marker ladder 100 bp (Invitrogen 100 bp). (+) : kontrol positif sebagai pembanding dari bahan *P. falciparum* invitro.

Identifikasi menggunakan *single step* PCR, sampel sampel yang dinyatakan positif mengandung *P. falciparum* ditunjukkan dengan pita berukuran 346 bp. Seperti terlihat pada Gambar 6.1(a) dan (b). Pada masyarakat tertutup terdapat 7 sampel dengan ukuran pita yang sama, yaitu sampel nomor; 27, 28, 31, 32 42, 50 dan 60. Sedangkan pada masyarakat terbuka, yaitu sampel nomor; 63, 85, dan 87 yang tercantum pada Tabel berikut ini :

Tabel. 6.2 Rekapitulasi Hasil *Single Step* PCR

Masyarakat	No Sampel	Jumlah
Tertutup	27, 28, 30, 31, 32, 42, 60	7
Terbuka	63, 85, 87	3
Total		10

Sampel yang telah dikonfirmasi dengan *single step* PCR pada masyarakat tertutup dan terbuka yang dinyatakan positif *P.falciparam* menggunakan *Single Step* PCR.

4. Diversitas genetika PfMSP-1 menggunakan *nested* PCR

1. Primer

PCR pertama gen PfMSP-1 dideteksi menggunakan primer MSP-1-C1, untuk diversitas genetik alel PfMSP-1 menggunakan primer K1, MAD20 dan RO33. *Sequence primer* selengkapnya (Aubuoy, 2003) tercantum di bawah ini:

Tabel 6.3 Primer untuk Identifikasi Genus dan Spesies *P. falciparum*

Gen	Primer	Sequence	Keterangan
MSP-1	MSP1-C1	5'-AAGCTTTAGAAAGATG CAGTATTGAC-3'	Conserved
	MSP1-C2	5'-ATTCATTAATTTCTTCA TATCCATC-3'	Conserved
	K1a	5'-GAAATTACTACAAAAGGT GCAAGTG-3'	Spesifik famili
	K1b	5'-AGATGAAGATATTTGAAC GAGGTAAGTG-3'	K1
	MAD20a	5'-AATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTAC-3'	Spesifik famili
	MAD20b	5'-ATCTGAAGGTTTGTACG TCTTGAAGTTGTTG-3'	MAD20
	RO33a	5'-TAAAGGATGGAGCAAAT ACTCAAGTTGTTG-3'	Spesifik famili
	RO33b	5'-CATCTGAAGGATTTGCA GCACCTGGAGATC-3'	RO33

Keterangan : MSP1-C1 dan MSP1-C2 (*Conserved*) untuk deteksi MSP-1, K1a dan K1b : spesifik famili, MAD20a dan MAD20b, RO33a dan RO33b merupakan struktur gen dari PfMSP-1 **Sumber :** Aubuoy (2003)

2. Nested dan elektroforesis

Diversitas genetik populasi parasit malaria dapat diketahui pada masyarakat tertutup dan masyarakat terbuka di Kabupaten Buru Selatan menggunakan amplifikasi nested PCR. Amplifikasi PCR pertama, menggunakan *outo* primer yang berhubungan dengan *sequens* yang mengapit *conserve region* MSP-1 (menggunakan primer MSP1-C1 dan MSP1-C2). Amplifikasi kedua menggunakan produk PCR pertama sebagai *template* dan menggunakan primer spesifik

untuk MAD20, K1, RO33. Reaksi PCR pertama dengan total volume 20 μ l terdiri dari 2x PCR *master mix* (*i-TaqTm-Intron Biotechnology*), DNA template 2 μ l dan 25 pmol/ μ l primer MSP-1 *conserve forward* dan *reverse*. Kondisi PCR adalah 94°C selama 5 menit untuk pra denaturasi, dan 94°C 2 detik untuk denaturasi, *annealing* 55°C 1 menit 30 detik, *extention* pada 72°C 2 menit, dilakukan sebanyak 30 *cycles*, dan *final extention* 72°C 10 menit.

Kemudian produk PCR pertama elektroforesis menggunakan 1,5% agarose gel pada 80 volt selama 90 menit. Visualisasi pita dilakukan dengan UV iluminator setelah pengecatan dengan 0,5 μ g/ml *ethidium bromide*, kemudian di foto.

BAB 7

TEMUAN POLIMORFISME MASYARAKAT TERTUTUP DAN TERBUKA

Pengumpulan data berbasis masyarakat dari 2 kelompok masyarakat tertutup dan terbuka di Kecamatan Namrole Kabupaten Buru Selatan yang meliputi; penentuan daerah endemisitas malaria berdasarkan data sekunder dari puskesmas Namrole wilayah kerja Dinas Kesehatan. Setelah memperoleh informasi selanjutnya dilaksanakan kegiatan penelitian yang dimulai dari, kesediaan menjadi responden yang dibuktikan dengan penandatanganan persetujuan ikut dalam penelitian, selanjutnya dilakukan pengumpulan data sebagai berikut:

A. Karakteristik Masyarakat Tertutup dan Terbuka

Penelitian mengenai polimorfisme genetik *Plasmodium falciparum* Merozoit Surface protein-1 (PfMSP-1) alel K1 MAD20 dan RO33 di Kabupaten Buru Selatan dimulai dengan studi pendahuluan dan penentuan

lokasi penelitian, alasan memilih lokasi penelitian ini adalah merupakan daerah kepulauan dan termasuk daerah endemis malaria. Penelitian tentang PfMSP-1 ini belum pernah dilakukan di masyarakat tertutup dan terbuka di kabupaten Buru Selatan. Sampel berasal dari masyarakat tertutup dan masyarakat terbuka berjumlah 128 orang diperoleh secara *porpositive sampling* berdasarkan tujuan penelitian dan kriteria inklusi.

Penelitian ini diawali dengan identifikasi spesies parasit menggunakan *Rapid Diagnostic Tes* (RDT) dan mikroskopis kemudian dikonfirmasi dengan teknologi molekuler *Polymerase Chain Reaction* (PCR) sebagai gold standar untuk identifikasi dengan metode *single steep* PCR. Untuk deteksi spesies *plasmodium* menggunakan primer PL3, PL4 dan PL5 spesifik untuk *P. falciparum*, *P. vivax* dan infeksi campuran (*mix*). Hasil identifikasi dilanjutkan dengan pemeriksaan *nested* PCR untuk melihat perbedaan polimorfisme genetika PfMSP-1 alel K1, MAD20 dan RO33 pada dua kelompok masyarakat tertutup dan terbuka di Kecamatan Namrole Kabupaten Buru Selatan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa responden pada masyarakat tertutup dan terbuka memiliki perbedaan polimorfisme yang berbeda berdasarkan karakteristik, menunjukkan bahwa pada masyarakat tertutup yang paling banyak terinfeksi malaria dengan *P. falciparum* tanpa gejala khas malaria (asymtomatik), namun tidak ditemukan adanya polimorfisme. Sedangkan pada masyarakat terbuka sedikit ditemukan *P. falciparum* dan terdapat polimorfisme.

1. Umur

Penelitian ini menunjukkan bahwa kejadian malaria pada masyarakat tertutup dan terbuka sebagian besar ditemukan pada anak usia kurang dari 15 tahun. Masyarakat tertutup ini tinggal di daerah endemis malaria dan belum banyak berhubungan dengan masyarakat terbuka, tidak memiliki akses terhadap pelayanan kesehatan bila dibandingkan dengan masyarakat terbuka yang sudah mendapat tekanan program pemerintah, pengobatan, serta memiliki akses terhadap pelayanan kesehatan. Berdasarkan uji statistik bahwa tidak terdapat perbedaan umur dengan polimorfisme PfMSP-1 alel K, MAD20 dan RO33 secara signifikan.

Hal ini terlihat dari analisis polimorfisme PfMSP-1 ditemukan pada satu penderita yang berumur 25 tahun dan satu orang penderita yang berumur 5 tahun pada masyarakat terbuka. Pada penderita malaria *P. falciparum* < 15 tahun masyarakat pada masyarakat tertutup tidak ditemukan polimorfisme, hanya terdapat monomorfik dan dimorfik yang berarti terjadi infeksi parasit dengan satu atau dua genotipe. Secara statistik tidak ada perbedaan secara signifikan pada kelompok masyarakat tersebut, karena jumlah sampel sangat sedikit.

Tabel 7.1 Analisis Hubungan Karakteristik Umur dengan Pemeriksaan PCR untuk Identifikasi *P. falciparum*

A.							
Karakteristik (Umur)	Polymerase Chain Reaction				Jumlah		Nilai X ² Nilai p
	Positif		Negatif				
	N	%	n	%	N	%	
1-10 thn	6	8,3	66	91,7	72	100	
>10 thn	4	7,1	52	92,9	56	100	X ² =0,000
Total	10	7,8	118	92,2	128	100	P=1,000

Tabel 7.1 menunjukkan bahwa responden yang memiliki umur 1-10 tahun yang sakit malaria *P. falciparum* yang dinyatakan positif berdasarkan pemeriksaan PCR sebanyak 8,3%, sedangkan responden yang berumur > 10 tahun, lebih sedikit yang dinyatakan positif malaria *P.falciparum* yaitu 7,1%. Hasil uji *Fisher's Exact Test* menunjukkan nilai probabilitas 1,000 ($<0,25$), sehingga faktor umur dapat dimasukkan ke dalam analisis multivariat.

Perbedaan polimorfisme berdasarkan umur terlihat bahwa umur ≤ 15 tahun pada masyarakat tertutup tidak ditemukan adanya polimorfisme .berdasarkan *nested* PCR diperoleh pita berukuran 100, 200 bp yang berarti monomorfik dan dimorfik, monomorfik diartikan sebagai infeksi parasit dengan satu genotipe dan dimorfik adalah terjadinya infeksi parasit dengan dua genotipe ditemukan pada umur ≤ 15 tahun dan pada umur 25 tahun ditemukan adanya polimorfisme dengan ukuran pita lebih dari tiga pita yang berarti polimorfik, diartikan sebagai infeksi dengan tiga genotipe dan infeksi dengan empat genotipe atau *Multiplication Of Infection* (MOI). Anak yang berusia kurang dari 15 tahun memiliki kerentanan terhadap infeksi malaria dan tidak menunjukan gejala yang khas.

Penelitian yang berbeda dilakukan oleh Salem *et al.*, (2014) di Mauritania mengemukakan bahwa distribusi menurut kelompok umur penderita 5 -19 tahun dengan *P.falciparum* pada MSP-11 blok 2 terhadap jenis alel K1, MAD20 dan RO33 memiliki kombinasi yang berbeda secara signifikan dengan penderita lainnya. namun tidak ada hubungan yang signifikan antara banyaknya infeksi dari kelompok penderita dengan alel K1, MAD20 dan RO33 berdasarkan parasitemia. Tidak ada perbedaan umur dengan tingkat parasitemia. Namun ada hubungan yang

signifikan antara parasitemia dengan banyaknya infeksi *P.falciparum*

Menurut Depkes (2012) bahwa anak berusia 0-15 tahun lebih rentan terhadap infeksi parasit malaria, terutama pada anak dengan gizi buruk. Infeksi akan berlangsung lebih hebat pada usia muda atau sangat muda karena belum matangnya sistem imun pada usia muda, sedangkan pada usia tua disebabkan oleh penurunan daya tahan tubuh misalnya oleh karena penyakit penyerta (Birkmann, 2006). Perbedaan angka kesakitan malaria pada berbagai golongan umur selain dipengaruhi oleh faktor kekebalan juga dipengaruhi oleh faktor lain seperti pekerjaan, pendidikan dan migrasi penduduk. Zulkifli *et al.*, (2008) menyebutkan bahwa umur berkaitan dengan kerentanan suatu penyakit menular.

Penelitian ini didukung oleh Marsh *at al.*, (1997) bahwa riwayat alamaiah di daerah endemik ditandai dengan periode parasitemia tanpa gejala yang panjang diselingi dengan episode serangan klinis, menurun dalam jumlah seiring dengan penambahan usia. Penduduk yang tinggal di daerah endemik melalui paparan infeksi yang berulang, secara perlahan mendapatkan mekanisme membatasi respon inflamasi dari parasit yang menyebabkan gejala demam (imunitas klinis), mekanisme untuk membunuh parasit dan menghambat replikasi parasit (imunitas anti parasitik), sehingga pada anak-anak dimana mekanisme proteksi imunitas belum berkembang, memiliki risiko lebih besar untuk memiliki gejala klinis malaria, malaria berat bahkan sampai menyebabkan kematian.

Miller *et al.*, (2012), menyebutkan bahwa infeksi campuran *P. falciparum* banyak di temukan pada pada

anak dengan usia 12 bulan (25%) berhubungan signifikan dengan prevalensi malaria, ditemukan di daerah pedesaan Papua Nugini yang diamati berdasarkan musim puncak penularan malaria. Notobroto *et al.*, (2009) mengemukakan bahwa umur merupakan faktor *cofounding* yang berhubungan secara signifikan dengan kejadian malaria, karena seperti yang dikemukakan oleh Gunawan (2000), secara umum dapat dikatakan bahwa pada dasarnya setiap orang dapat terkena malaria. Perbedaan prevalensi menurut umur berkaitan dengan perbedaan derajat kekebalan terhadap malaria. Kekebalan yang diperoleh bayi dari ibunya memberikan perlindungan terhadap kejadian malaria.

2. Jenis kelamin

Penelitian pada masyarakat tertutup dan terbuka berdasarkan jenis kelamin, merupakan faktor penentu dalam kerentanan terhadap penyakit malaria *P. falciparum*.

Tabel 7.2 Analisis Hubungan Karakteristik (Jenis Kelamin) Pemeriksaan PCR untuk Identifikasi *P. falciparum*

Jenis Kelamin	<i>Polymerase Chain Reaction</i>				Jumlah		Nilai X ² Nilai p
	Positif		Negatif				
	N	%	N	%	N	%	
Laki-laki	5	8,3	55	91,7	60	100	X ² = 0,000 P = 1,000
Perempuan	5	7,4	63	92,6	68	100	
Total	10	7,8	118	92,2	128	100	

Tabel 7.2 menunjukkan bahwa responden berjenis kelamin laki-laki sebanyak 8,3% yang teridentifikasi menderita malaria *P. falciparum* berdasarkan hasil pemeriksaan PCR, sedangkan responden yang berjenis kelamin perempuan adalah 7,4%. Hasil uji Fisher's Exact

Test menunjukkan nilai probabilitas 1,000 ($>0,25$) maka jenis kelamin dapat dilanjutkan ke dalam analisis multivariat.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa responden yang menderita malaria berjenis kelamin perempuan dan laki-laki dari dua kelompok masyarakat tertutup dan terbuka berdasarkan pemeriksaan RDT, mikroskopis dan pemeriksaan PCR didominasi oleh jenis kelamin laki-laki. Menurut Notobroto *et al.*, (2009) menyebutkan bahwa tidak terdapat perbedaan kejadian malaria yang bermakna secara statistik berdasarkan jenis kelamin, hal ini menunjukkan bahwa jenis kelamin bukan *confounding factor* kejadian malaria, hasil penelitian yang berbeda yang disampaikan oleh Gunawan, (2000) bahwa perbedaan prevalensi menurut umur dan jenis kelamin sebenarnya berkaitan dengan perbedaan derajat kekebalan karena variasi keterpaparan dengan gigitan nyamuk.

3. Jenis pekerjaan

Pekerjaan responden berhubungan dengan kejadian malaria, berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa pekerjaan masyarakat tertutup maupun masyarakat terbuka memiliki pekerjaan sebagai petani atau bercocok tanam dan keberadaan vektor *Anopheles* dan tempat perindukan (*breeding place*) berupa hutan, sungai, genangan air (rawa), lagom yang berdekatan dengan pemukiman penduduk. Maka secara otomatis terjadi kontak dengan gigitan nyamuk karena sering berada diluar rumah. Sillem, (2009) mengemukakan bahwa kebiasaan berada diluar rumah memiliki risiko tertular malaria.

Tabel 7.3 Analisis Hubungan Karakteristik (Jenis Pekerjaan) Pemeriksaan PCR untuk Identifikasi *P. falciparum*

A.

Karakteristik (Jenis Pekerjaan)	Polymerase Chain Reaction						Nilai X ² Nilai p
	Positif		Negatif		Jumlah		
	N	%	N	%	N	%	
Berisiko (petani, nelayan, berburu)	4	11,1	32	88,9	36	100	X ² = 0,254
kurang berisiko (PNS, pedagang, IRT, belum bekerja)	6	6,5	86	93,5	92	100	P = 0,466
Total	10	7,8	118	92,2	128	100	

Tabel 7.3 menunjukkan bahwa responden yang memiliki jenis pekerjaan (petani, nelayan, berburu) yang menderita malaria *P. falciparum* dinyatakan positif berdasarkan pemeriksaan PCR sebanyak 11,1%, sedangkan responden yang memiliki risiko rendah adalah (PNS, pedagang, IRT dan belum bekerja), lebih banyak menderita positif malaria *P.falciparum* yaitu 6 orang (6,5 %). Hasil uji *Fisher's Exact Test* menunjukkan nilai probabilitas 0,466 (<0,25), sehingga faktor jenis pekerjaan dapat dimasukkan ke dalam analisis multivariat (*logistic regression*).

Penelitian ini menunjukkan bahwa kelompok masyarakat tertutup lebih memiliki densitas parasit yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan masyarakat moderen. Masyarakat terbuka yang menderita malaria berobat di tempat pelayanan kesehatan terdekat, dan berdasarkan hasil pemeriksaan mikroskopis densitas parasit lebih besar bila dibandingkan dengan masyarakat tertutup.

B. Hasil Identifikasi Spesies *Plasmodium* dengan *Rapid Diagnostic Test* (RDT)

Untuk pengambilan sampel darah dilakukan dengan tiga tahap pengambilan sampel darah untuk identifikasi spesies *Plasmodium* secara *Rapid Diagnostic Test* (RDT), membuat sediaan hapusan darah tetes tebal dan hapusan tipis dengan *slide* (*Objek glass*), dan dilanjutkan dengan membuat sediaan dari *blood spot* (*filter paper*) untuk isolasi DNA. Kemudian dilakukan perlakuan terhadap sampel yang telah dikoleksi dari dua komunitas masyarakat tertutup dan terbuka.

Pemeriksaan dengan menggunakan RDT yaitu pemeriksaan secara cepat dalam penegakan diagnostik malaria. Kelebihan RDT adalah penegakan diagnosis malaria secara cepat, dan tidak membutuhkan tenaga teknis, dapat dipakai pada daerah sulit dari jangkauan akses pelayanan kesehatan dan jika terjadi kejadian luar biasa (KLB). Sedangkan kekurangan penggunaan RDT adalah tidak dapat menghitung densitas parasit.

Pemeriksaan RDT untuk identifikasi spesies *Plasmodium* berdasarkan uji sensitivitas dan spesifisitas memiliki nilai kepekaan (sensitifitas) 100% dengan pemeriksaan mikroskopis. RDT dapat direkomendasikan sebagai alat untuk penegakkan diagnosis malaria di daerah terpencil dengan keterbatasan sarana dan prasarana. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan pada masyarakat tertutup dan terbuka di Kecamatan Namrole Kabupaten Buru Selatan ditemukan responden yang teridentifikasi *P. falciparum*, *P. vivax* dan infeksi campuran (*mix*) sebanyak 21 responden. Hasil penelitian ini memiliki kesamaan dengan penelitian yang dilakukan oleh Fuadzy dan Santi (2013) yang menyatakan bahwa pemeriksaan malaria dengan menggunakan alat ukur RDT

memiliki tingkat kepekaan yang hampir sama dengan pemeriksaan mikroskopis.

Sampel berasal dari dua kelompok masyarakat tertutup dan terbuka sebanyak 128 sampel yang dilakukan pemeriksaan darah untuk Identifikasi spesies *Plasmodium*. sampel atau responden yang diambil berdasarkan kriteria inklusi. Alat yang digunakan untuk mendeteksi jenis spesies *Plasmodium* secara cepat untuk penegakkan diagnostik adalah Rapid Diagnostic Test (RDT). Hasil pemeriksaan darah menunjukkan bahwa responden yang dideteksi dengan pemeriksaan RDT sebanyak 21 orang, terdiri; 12 orang *P. falciparum*, 6 orang *P. vivax* dan infeksi campuran (mix) sebanyak 3 orang.

C. Hasil Identifikasi Spesies *Plasmodium* dengan menggunakan Mikroskopis

Berdasarkan pemeriksaan RDT ditemukan sebanyak 21 responden positif terinfeksi *P. falciparum*, *P. vivax* dan infeksi campuran (mix) hasil deteksi RDT kemudian dilanjutkan dengan konfirmasi secara mikroskopis dengan pengecatan giemsa diperoleh hasil pemeriksaan yang sama adalah 21 sampel ditemukan jenis parasit yang sama. Hasil penelitian ini memiliki perbedaan dengan penelitian yang dilakukan oleh Arum *et al.*, (2006) diperoleh sampel sebanyak 604 yang memenuhi kriteria malaria secara klinis. Pada pemeriksaan mikroskopis diperoleh *P. vivax* 37 sampel, *P. falciparum* 45 sampel, sementara sampel tanpa infeksi *plasmodium* sebanyak 517 dan infeksi campuran antara *P. falciparum* dan *P. vivax* 5 sampel di Nusa Tenggara Barat.

Hasil penelitian ini memiliki kesamaan dengan penelitian yang dilakukan oleh Daysema *et al.*, (2016)

yang menyatakan bahwa penelitian selama bulan Desember 2014 - Januari 2015 di peroleh sebanyak 100 sampel di Papua. Pada pemeriksaan mikroskopis hanya diperoleh *P. falciparum* sebanyak 15 sampel. Hasil yang didapatkan ialah *P. falciparum* berbentuk cincin (*ring*), jumlah kepadatan parasit 2-5 dalam 100 LPB. Banyak penelitian tentang metode pemeriksaan laboratorium dalam diagnostik malaria yang lebih baik dari yang sudah ada, namun sampai saat ini, pemeriksaan mikroskopis masih pilihan utama dan merupakan standar baku diagnosis malaria yang efektif.

D. Hasil Identifikasi Spesies *Plasmodium* dengan menggunakan *single step* PCR

Sebanyak 21 responden yang teridentifikasi *P. falciparum* dengan mikroskopis, selanjutnya dilakukan konfirmasi dengan metode *single step* PCR (Patsoula *et al.*, 2002) sebelum dilakukan pemeriksaan terlebih dahulu sampel darah yang terdapat pada *blood spot (filter paper)* diisolasi DNA parasit, kemudian dilakukan identifikasi dengan *single step* PCR. Sebanyak 10 sampel positif terinfeksi *P. Falcifarum* pada masyarakat tertutup 7 sampel dan 3 sampel pada masyarakat terbuka. Satu set primer yang digunakan untuk mendeteksi *Plasmodium* adalah PL3, PL4 dan PL5. Untuk mendeteksi *Plasmodium* secara global digunakan PL3 yaitu *P. falciparum*, *P. vivax* infeksi campuran antara *P. falciparum* dan *P. vivax*. PL4 digunakan untuk mendeteksi *P. vivax*, sedangkan PL5 untuk mendeteksi *P. falciparum*. Hasil identifikasi ditemukan sebanyak 10 responden teridentifikasi mengandung *P. falciparum*.

Selain itu, penggunaan PCR juga digunakan untuk menentukan pengobatan yang efektif terhadap malaria.

Jenis spesies malaria harus diidentifikasi segera dan dibedakan dari spesies *Plasmodium* lain yang bertujuan untuk penegakan diagnostik dengan teknologi molekuler. Hal ini disebabkan pengobatan terhadap *P. vivax* dan *P. ovale* dengan primakuin bertujuan untuk menghilangkan stadium liver yang persisten berdasarkan hasil dari pemeriksaan laboratorium. Standart emas atau *gold standart* pemeriksaan terhadap malaria dengan menggunakan mikroskopis yaitu identifikasi *Plasmodium spp.* di Giemsa tetes darah tebal dan tipis. PCR merupakan diagnostik tambahan yang bertujuan untuk identifikasi konfirmasi dari *Plasmodium spp* pada sampel malaria klinis. Banyak tes PCR telah dikembangkan untuk diagnosis laboratorium malaria, termasuk teknik PCR konvensional dan real-time, yang memungkinkan diferensiasi keempat spesies *Plasmodium*.

Pada penelitian ini, sampel darah yang berasal dari dua kelompok masyarakat tertutup dan terbuka menggunakan *filter paper* (kertas saring) kemudian dilakukan isolasi DNA, selanjutnya diperoleh DNA yang sudah dimurnikan dan selanjutnya dipakai untuk deteksi DNA dari sampel tersebut. Berdasarkan hasil penelitian, PCR memiliki tingkat kepekaan yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan alat diagnostik untuk identifikasi spesies *Plasmodium*. Sebanyak 10 responden terdeteksi *P. falciparum* dari dua kelompok masyarakat tertutup dan terbuka. Hasil penelitian ini memiliki kemiripan dengan penelitian yang dilakukan oleh Aslan *et al.*, (2007) yang menyatakan bahwa dari 114 sampel malaria yang dideteksi dengan menggunakan mikroskop, 100 sampel positif dengan menggunakan PCR.

E. Analisis Hubungan Polimorfisme PfMSP-1 alel K1, MAD20 dan RO33 Berdasarkan Riwayat Berpergian

Hasil penelitian yang dilakukan pada masyarakat tertutup dan masyarakat terbuka menunjukkan bahwa hubungan riwayat bepergian dengan terjadinya polimorfisme genetica Pf.MSP-1 berdasarkan pemeriksaan dengan *nested* PCR untuk melihat polimorfisme genetica PfMSP-1 alel K1, MAD20 dan RO33 diperoleh tidak ada perbedaan polimorfisme dengan riwayat bepergian ke daerah lain tidak bermakna secara statistik.

Tabel 7.4 Analisis Hubungan Riwayat Berpergian dengan Pemeriksaan PCR untuk Identifikasi *P. falciparum*

Riwa yat Ber pergi an	<i>Polymerase Chain Reaction</i>						Nilai
							X ²
	Positif		Negatif				Nilai p
	N	%	n	%	N	%	
Ya	2	3,7	52	96,3	54	100	X ² = 1,314 P = 0,189
Tidak	8	10,8	66	89,2	74	100	
Total	10	7,8	118	92,2	128	100	

Tabel 7.4 menunjukkan bahwa responden yang memiliki riwayat bepergian ke daerah lain, yang dinyatakan positif malaria *P. falciparum* berdasarkan pemeriksaan PCR sebanyak 3,7%, sedangkan responden yang tidak memiliki riwayat bepergian, lebih banyak yang dinyatakan positif malaria *P.falciparum* yaitu 10,8%. Hasil uji *Fisher's Exact Test* menunjukkan nilai probabilitas 0,189 (<0,25), sehingga faktor riwayat bepergian dapat dilanjutkan ke dalam analisis multivariat (*logistic regression*).

Responden pada masyarakat tertutup semuanya tidak melakukan aktivitas bepergian ke luar daerah, hal ini disebabkan karena responden ini semuanya berusia ≤ 15 tahun. Sedangkan pada masyarakat terbuka hanya terdapat satu responden yang melakukan aktivitas bepergian ke daerah lain dan berprofesi sebagai pedagang. Riwayat bepergian ke daerah lain memiliki risiko terjadinya malaria lebih kecil bila dibandingkan masyarakat yang tidak melakukan aktivitas bepergian keluar daerah atau tinggal dan menetap, memiliki faktor risiko lebih tinggi. Secara statistik riwayat bepergian ke daerah lain tidak bermakna.

Masyarakat yang hidup di daerah endemis malaria cenderung memiliki risiko penularan malaria bila dibandingkan dengan masyarakat yang bepergian keluar daerah memiliki kecenderungan rendah mengalami malaria. Penelitian ini didukung oleh penelitian sebelumnya yang mengemukakan bahwa orang dengan mobilitas, atau migrasi memiliki risiko menderita malaria lebih tinggi bila dibandingkan dengan masyarakat yang tidak bepergian ke daerah endemis malaria. Hasil penelitian ini menarik dari penelitian yang dilakukan sebelumnya di beberapa daerah menunjukkan bahwa, masyarakat yang melakukan mobilitas atau migrasi penduduk lebih banyak mengalami risiko malaria.

Masyarakat yang bepergian keluar daerah atau ke desa tetangga dalam kurun waktu 1 tahun terakhir memiliki risiko terjadinya malaria lebih rendah. Hal ini menunjukkan bahwa masyarakat tertutup maupun masyarakat terbuka yang tinggal di Kabupaten Buru Selatan yang merupakan daerah endemis malaria memiliki risiko tinggi menderita malaria. Fenomena yang terjadi di masyarakat tertutup yang tinggal di daerah endemis

memiliki antibodi yang cukup tinggi terhadap malaria. Masyarakat tertutup ini menderita malaria tanpa gejala (*asymptomatic*), ketika dilakukan pemeriksaan dengan menggunakan RDT dan pemeriksaan mikroskopis ditemukan positif malaria.

Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh weraman, (2013) di Provinsi Nusa Tenggara Timur, menyebutkan bahwa Penduduk yang bepergian keluar daerah yaitu dari daerah endemis ke daerah non endemis malaria atau sebaliknya migrasi. Penduduk yang datang dan pergi satu bulan atau satu tahun terakhir menunjukkan bahwa mobilitas responden jarang keluar desa atau tidak pernah dalam satu bulan terakhir berarti terjadi penularan *indigenous* yang mengakibatkan morbiditas pada bayi maupun ibu hamil kemungkinan tinggi. Salah satu pembahasan dari adanya penyakit malaria pada suatu daerah perlu diketahui asal-usul infeksi, karena sangat berhubungan dengan mobilitas penduduk misalnya *vulnerability* yaitu menunjukan suatu daerah malaria atau vektor yang terinfeksi.

Adanya mobilitas dari daerah yang *unstable* malaria ke daerah *stable* dimana transmisi di daerah tersebut tinggi tanpa banyak fluktuasi selama bertahun-tahun cukup tinggi. Malaria yang *unstable* lebih mudah ditanggulangi daripada malaria di daerah yang *stable* (Harjanto, 2000; Yudhastuti, 2005; weraman, 2013). Hasil analisis hubungan antara riwayat bepergian ke daerah lain atau desa tetangga dengan pemeriksaan RDT, mikroskop dan pemeriksaan PCR menunjukkan bahwa riwayat bepergian ke daerah lain tidak berhubungan dengan polimorfisme genetika PfMSP-1 alel K1, MAD20

dan RO33 secara statistik tidak bermakna namun secara molekuler sangat bermakna.

F. Analisis Hubungan Polimorfisme PfMSP-1 alel K1, MAD20 dan RO33 Berdasarkan Riwayat Sakit Malaria

Gejala sakit malaria yang pernah diderita responden selama 1 tahun terakhir memiliki ciri khas, panas disertai demam, sakit kepala, pusing nafsu makan menurun, rasa mual dan nyeri persendian. Penelitian yang dilakukan pada dua kelompok yaitu masyarakat terbuka dan masyarakat tertutup di wilayah kerja Puskesmas Namrole, ditemukan berbagai variasi yang berbeda antara dua komunitas. Masyarakat tertutup pada umumnya menderita malaria tanpa gejala (asymtomatik), fenomena ini menunjukkan bahwa masyarakat tertutup belum memiliki perubahan sosial budaya serta belum banyak berhubungan dengan dunia luar.

Tabel 7.5 Analisis Hubungan Riwayat Sakit Malaria dengan Pemeriksaan PCR untuk Identifikasi *P. falciparum*

Riwayat Sakit Malaria	<i>Polymerase Chain Reaction</i>				Jumlah		Nilai X ² Nilai p	
	Positif		Negatif					
	N	%	N	%	N	%		
Ya	7	12,5	49	87.5	56	100	X ² = 1,990 p = 0,103	
Tidak	3	4,2	69	95,8	72	100		
Total	10	7,8	118	92,2	128	100		

Tabel 7.5 menunjukkan bahwa responden yang memiliki riwayat sakit malaria, yang dinyatakan positif malaria *P. falciparum* berdasarkan pemeriksaan PCR sebanyak 12,5%; sedangkan responden yang tidak

memiliki riwayat sakit malaria, lebih sedikit yang dinyatakan positif malaria *P. falciparum* yaitu 4,2%. Hasil uji *Fisher's Exact Test* menunjukkan nilai probabilitas 0,103 ($<0,25$), sehingga faktor riwayat berpergian dapat dilanjutkan ke dalam analisis multivariat (*logistic regression*).

Masyarakat tertutup memiliki respon immunitas yang tinggi terhadap malaria bila dibandingkan dengan masyarakat terbuka, kehidupan yang bersifat alami tanpa tekanan dari luar yang masuk kedalam masyarakat ini memberikan gambaran bahwa masyarakat yang masih mempertahankan kehidupan tradisional yang turun temurun dari leluhur memiliki ketergantungan kehidupan di alam sekitar dan beradaptasi dengan lingkungan, hidup sebagai masyarakat yang primitif dan belum banyak melakukan aktivitas dengan kehidupan terbuka. Penelitian yang dilaksanakan pada masyarakat tertutup ini dilakukan dengan pendekatan kajian etnografi, dengan mengkaji kehidupan sosial budaya yang ada pada masyarakat, dengan melihat bagaimana cara berinteraksi sosial dengan anggota keluarga, bagaimana mengatasi masalah kesehatan yang ada pada anggota keluarga atau lingkungan dan bagaimana mengatasi masalah kesehatan tersebut.

Berdasarkan hasil observasi di lokasi penelitian, jarang dijumpai masyarakat yang sakit malaria pada saat penelitian berlangsung, namun tetap dilakukan pemeriksaan darah untuk mengidentifikasi jenis parasit yang ada pada masyarakat tersebut, dengan melakukan pemeriksaan cepat, karena daerah ini termasuk endemis malaria. Sedangkan pada masyarakat terbuka dijumpai riwayat sakit malaria selama 1 tahun terakhir dan tidak ada riwayat malaria juga diikuti dalam penelitian ini dengan

pertimbangan dua komunitas ini merupakan daerah endemis malaria dan memiliki karakteristik vektor dan, tempat perindukan yang sama.

Hasil pemeriksaan darah ditemukan adanya parasit antara lain, *P.falciparum*, *P.vivax* dan infeksi campuran (mix), penelitian menunjukkan bahwa berdasarkan variabel riwayat sakit malaria dihubungkan dengan kejadian malaria memiliki hubungan yang sangat bermakna secara statistik dengan kejadian malaria melalui pemeriksaan RDT, mikroskopis dan pemeriksaan PCR, walaupun tidak diperoleh informasi tentang riwayat sakit malaria selama penelitian berlangsung, secara statistik tidak bermakna antara pemeriksaan mikroskopis dan PCR

G. Analisis Hubungan Polimorfisme PfMSP-1 alel K1, MAD20 dan RO33 Berdasarkan Riwayat Minum Obat Anti Malaria (OAM).

Pengobatan malaria yang digunakan oleh masyarakat tertutup dan terbuka di Kecamatan Namrole, pada masyarakat tertutup menggunakan pengobatan secara tradisional apabila ada anggota keluarga yang ada diantara mereka yang mengalami tanda dan gejala awal yang dirasakan dari penyakit malaria adalah (panas dan dingin), menggigil, mual, sakit kepala, muntah-muntah. Penyakit malaria memiliki gejala yang cukup khas yaitu demam (panas dan dingin), menggigil, nyeri persendian, sakit kepala, muntah-muntah dan kerusakan retina. Penelitian ini didukung oleh Arsin, (2012).

Tabel 7.6 Analisis Hubungan Riwayat Minum Obat dengan Pemeriksaan PCR untuk Identifikasi *P. falciparum*

Riwayat Pengob	Polymerase Chain Reaction (PCR)		Jumlah	Nilai X ²
	Positif	Negatif		Nilai p

atan	N	%	N	%	N	%	
Malaria							$X^2 =$
Ya	3	13,6	19	86,4	19	100	0,465
Tidak	7	6,6	99	93,4	99	100	$P =$
Jumlah	10	7,8	118	91,4	128	100	0,374

Tabel 7.6 menunjukkan bahwa responden yang memiliki riwayat pengobatan, yang dinyatakan positif malaria *P. falciparum* berdasarkan pemeriksaan PCR sebanyak 13,6%. Sedangkan responden yang tidak memiliki riwayat pengobatan sebanyak 6,6% yang dinyatakan positif malaria *P. falciparum*. Hasil uji *Fisher's Exact Test* menunjukkan nilai probabilitas 0,374 ($>0,25$), sehingga faktor riwayat bepergian tidak dapat dimasukkan ke dalam analisis multivariat (*logistic regression*).

Gejala malaria terdiri dari beberapa serangan demam interval tertentu (*parokisme*), diselingi oleh suatu periode yang penderitanya bebas sama sekali dari demam disebut periode laten. Gejala khas tersebut sebelum timbulnya demam biasanya penderita mengeluh sakit kepala, kehilangan nafsu makan, merasa mual diulu hati atau muntah. Gejala yang dirasakan masyarakat tertutup berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Siahaan.L, (2008), bahwa Demam sebagai salah satu gejala klasik malaria, tidak selalu harus ditemukan pada penderita malaria, terutama di daerah endemis malaria.

Dari data masing-masing tempat penelitian didapatkan bahwa hanya 64,7% dan 58,5% penderita malaria di Kabupaten Nias Selatan dan Kota Sabang yang datang dengan gejala klinis demam. Selain demam, keluhan badan pegal, pusing, gangguan pencernaan dan lemas, juga harus diperhatikan sebagai gejala klinis malaria, terutama di daerah endemis malaria. Alasan lain

memilih pengobatan sendiri karena pengalaman dan informasi dari tetangga sekelilingnya yang diyakini pengobatan tradisioanal sebagai aset dari para leluhur yang diwariskan ke generasi berikut.

Masyarakat Kecamatan Namrole sebagian besar adalah suku asli pulau buru yang tinggala dan menetap di daerah pesisir pantai dan daerah pegunungan. Dengan demikian sifat masyarakat Buru Selatan adalah Homogen dimana saling mempercayai antara kerabat-kerabat atau keluarga dekat, baik itu istri, orang tua, tetangga dan saudara-saudara lainnya. Hal tersebut mempengaruhi bagaimana mereka menentukan pengobatan seperti apa yang mereka pilih. Hal ini sejalan dengan yang diungkapkan Mc Ewen 1979 (dalam Supardi *et al.*, 2008), tujuan pengobatan sendiri adalah untuk peningkatan kesehatan, pengobatan sakit ringan, dan pengobatan rutin penyakit kronis setelah perawatan dokter.

Perilaku masyarakat masyarakat tertutup memilih suatu pengobatan melihat dari segi praktis dan tingkat kesembuhan dikarenakan pekerjaan yang menuntut mereka harus beraktifitas setiap hari, jadi mereka memilih mengkonsumsi ramuan tradisional dan menggunakan jasa dukun atau kepala suku sebagai orang yang dianggap memiliki pengaruh spiritual untuk menentukan pengobatan. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Musadad, D.A, Rahajeng E, Syafei L, (2007), bahwa pada masyarakat Kampung Naga memiliki kecenderungan memilih pengobatan tradisional dalam hal ini meminta pertolongan jasa dukun yang mereka kenal dengan istilah "*Tukang Nyampe*" terlebih dahulu sebelum memeriksakan kesehatan kepada tenaga medis atau pengobatan terbuka.

Hasil wawancara menunjukkan pengobatan tradisional yang mereka pilih adalah pengobatan

tradisional dengan ramuan, yang memanfaatkan bahan-bahan dari alam atau sekitar rumah seperti buah, tumbuhan dan bumbu dapur. Hal ini sejalan dengan penelitian Plantus, (2007) tentang bagaimana cara usir malaria dengan tumbuh-tumbuhan/tanaman seperti daun *Sambiloto* bisa digunakan sebagai obat oral tunggal tradisional. Setiap kali hendak menggunakannya diperlukan kira-kira setengah genggam daun *Sambiloto* segar. Bahan itu dicuci, direbus dengan tiga gelas minum air bersih hingga tinggal sekira 3/4 bagiannya. Setelah disaring dan ditambahi madu (kalau dirasa perlu), air rebusan sudah siap dijadikan obat tradisional untuk malaria. Dalam sehari penderita dianjurkan meminumnya tiga kali.

Adapun alasan informan untuk memilih pengobatan ramuan tradisional ini karena pengalaman sebelumnya dari tetangga dan keluarga. Perilaku pencarian pengobatan ke pengobatan alternatif radiesthesis medik dilatarbelakangi oleh beberapa faktor. Pada masyarakat terbuka cenderung untuk menggunakan obat program malaria yaitu ACT karena akses pelayanan kesehatan bisa terjangkau, karena ada dorongan dari orang lain dan faktor pendukung, tersedianya sarana dan prasarana yang tersedia. Menurut Lawrence W. Green dalam (Aji dan Devy, 2010) ada tiga determinan perilaku bagi seseorang yaitu *predisposing factor* (faktor predisposisi), *enabling factor* (faktor pendukung) dan *reinforcing factor* (faktor pendorong).

H. Analisis Hubungan Polimorfisme PfMSP-1 alel K1, MAD20 dan RO33 Berdasarkan Pembesaran Limpa (*Splenomegali*)

Hasil penelitian di masyarakat tertutup dan terbuka menunjukkan bahwa responden yang dilakukan palpasi limpa pada masyarakat tertutup diperoleh 7 responden dan masyarakat terbuka adalah 4 responden sedikit dapat dikatakan daerah yang memiliki endemisitas rendah. Menurut Soedarto, (2011) prevalensi pembesaran limpa (*spleen rate*) merupakan indikator penting untuk menentukan intensitas penularan malaria di suatu daerah.

Untuk kepentingan studi epidemiologi malaria *spleen rate* ditentukan ukuran rerata pembesaran limpa pada suatu komunitas. Hasil penelitian membuktikan bahwa pembesaran limpa berhubungan dengan polimorfisme genetica PfMSP-1. Pada penderita malaria dengan 95 pembesaran limpa memiliki infeksi yang berlangsung sangat lama atau bersifat infeksi kronis. Oleh karena itu pembesaran limpa dapat dipakai sebagai indikator klinis untuk mendiagnosis malaria *P. falciparum* berdasarkan hasil pemeriksaan PCR.

Tabel 7.7 Analisis Hubungan Pembesaran Limpa dengan Pemeriksaan PCR untuk Identifikasi *P. falciparum*

Pembesaran Limpa	<i>Polymerase Chain Reaction</i>				Jumlah		Nilai X ² Nilai p
	Positif		Negatif				
	N	%	N	%	N	%	
Ya	3	30.0	7	70.0	10	100	X ² = 3,717 P = 0,041
Tidak	7	6,0	111	94,0	118	100	
Total	10	7,8	118	92,2	128	100	

Tabel 7.7 menunjukkan bahwa responden yang memiliki pembesaran limpa, yang dinyatakan positif malaria *P. falciparum* berdasarkan pemeriksaan PCR sebanyak 30%, sedangkan responden yang tidak memiliki

pembesaran limpa yang dinyatakan positif malaria *P. falciparum* yaitu 6,0 %. Hasil uji *Fisher's Exact Test* menunjukkan nilai probabilitas 0,041(<0,25)

Berdasarkan hasil *Fisher's Exact Test* tersebut di atas, maka faktor yang dapat dimasukkan ke dalam uji regresi logistik adalah: riwayat bepergian, riwayat sakit malaria, dan pembesaran limpa.

I. Analisis Perbedaan Polimorfisme Genetika PfMSP-1 alel K1, MAD20 dan RO33 dengan metode *nested* PCR Menggunakan 3 Pasang Primer yaitu K1a, K1b, MAD20a, MAD20b, RO33a dan RO33b.

Pada penelitian ini dilakukan analisis untuk identifikasi alel K1, MAD20 dan RO33. Ketiga primer ini merupakan bagian dari gen MSP-1 dan terbagi menjadi daerah yang *conserve*/lestari dan daerah yang semi *conserve*/semi-lestari. Ketiga primer tersebut merupakan bagian yang dekat dengan N-terminal MSP-1 dan merupakan bagian polimorfik dari antigen dan menunjukkan bagian yang paling banyak mengalami seleksi diversitas pada populasi alami.

Primer yang digunakan dalam deteksi polimorfisme adalah K1a, K1b, MADa, MAD20b dan RO33a, RO33b. Hasil penelitian menemukan bahwa pada masyarakat tertutup tidak ditemukan adanya polimorfisme genetika alel K1, MAD20 dan RO33 dengan ukuran *band* hanya terdapat satu dan dua *band* yaitu monomorfik dan dimorfik. Sedangkan pada masyarakat terbuka terdapat

polimorfisme dengan ukuran pita lebih dari dua dan lebih dari tiga pita yang berarti polimorfik. Polimorfik diartikan sebagai infeksi parasit dengan tiga genotipe atau lebih dari tiga infeksi parasit dengan lebih dari tiga genotipe dapat disebut juga dengan infeksi berulang atau *Multification Of Infection* (MOI).

Analisis polimorfisme genetika PfMSP-1 alel K1 pada masyarakat tertutup adalah tidak ditemukan polimorfisme dengan ukuran *band* 100 bp (monomorfik) infeksi parasit dengan satu genotipe dan 200 bp (dimorfik) infeksi parasit dengan dua genotipe. Alel MAD20 tidak ditemukan polimorfisme dengan ukuran pita 100 dan 200 bp diartikan sebagai monomorfik dan dimorfik. Sedangkan pada alel RO33 tidak ditemukan polimorfisme dengan ukuran pita sebagian besar adalah 100 bp (monomorfik) sedangkan dua sampel dengan ukuran band adalah 200 bp atau dimorfik yang berarti terjadi infeksi parasit dengan dua genotipe. Berdasarkan hasil pemeriksaan genetika PfMSP-1 alel K1, MAD20 dan RO33 pada masyarakat tertutup tidak ditemukan polimorfisme, hal ini disebabkan karena pada masyarakat tertutup belum banyak berhubungan dengan masyarakat terbuka, belum adanya tekanan program dari pemerintah, belum ada tekanan pengobatan, masyarakat yang hidup sebagai vegetatif, tidak melakukan aktivitas bepergian ke daerah endemis lainnya sehingga tidak terpapar dengan infeksi parasit dari daerah lain.

Analisis polimorfisme genetika PfMSP-1 alel K1, MAD20 dan RO33 pada masyarakat terbuka ditemukan polimorfisme alel K1 dari dua isolat yang memiliki ukuran pita 100, 200 dan 300 bp yang berarti polimorfik yaitu terdapat tiga infeksi parasit dengan tiga genotipe. Sedangkan satu isolat dengan ukuran pita 100, 200 adalah

dimorfik yang merupakan dua infeksi parasit dengan dua genotipe. Sebanyak satu isolat Alel MAD20 ditemukan mengalami polimorfisme dengan ukuran pita 100, 200 dan 500 bp menunjukkan polimorfik, yaitu terdapat tiga infeksi dengan tiga genotipe. Sedangkan dua isolat alel MAD20 ditemukan memiliki dua ukuran pita yang berarti dimorfik dengan infeksi parasit dan dua genotipe.

Satu isolat ditemukan pada alel RO33 dengan ukuran pita lebih dari tiga infeksi dengan ukuran pita 100, 200, 300, 500 bp adalah polimorfisme dan terjadi infeksi parasit secara berulang dengan empat genotipe (MOI). Penelitian ini didukung oleh Soulama *et al.*, (2009) mengemukakan hasil PCR dengan lebih dari satu (*single fragment*) dalam satu locus diartikan sebagai infeksi dengan satu genotipe. Hasil PCR dengan lebih dari dua fragmen diartikan sebagai infeksi dengan *multiple infection*. Sedangkan *multiplicity of infection* (MOI) menurut Brogeau (2006) adalah jumlah populasi parasit pada masing-masing isolat dan diestimasi dari lokus yang menunjukkan jumlah alel tertinggi pada isolat tersebut. Sedangkan menurut Aubuoy (2003) MOI adalah jumlah genotipe per infeksi, dihitung sebagai jumlah tertinggi genotipe pada tiap lokus yang diteliti (MSP-1 K1, MAD20 dan RO33).

Polimorfisme genetika PfMSP-1 alel K1, MAD20 dan RO33 terjadi sebagai akibat dari penggunaan obat anti malaria yang dijual secara bebas tanpa penjelasan mengakibatkan resistensi, terjadi rekombinasi genetika oleh tekanan pengobatan, bepergian keluar daerah atau kedaerah endemis malaria dan terjadi transmisi yang berulang. Penelitian ini memiliki kesamaan dengan penelitian yang dilakukan oleh Irawati (2011) tentang diversitas geteika MSP-1 di daerah endemis malaria

kepulauan Mentawai provinsi Sumatera Barat, bahwa infeksi campuran (*mix infection*) berdasarkan letak geografis daerah pegunungan dan dataran rendah di kepulauan Mentawai Provinsi Sumatera Barat. Sebanyak 56 responden yang terbagi dalam dua daerah yaitu dataran tinggi atau pegunungan di kabupaten Solok Selatan sebanyak 27 responden dan sebanyak 29 responden yang teridentifikasi *P.falciparum* di daerah pesisir selatan Sumatera Barat.

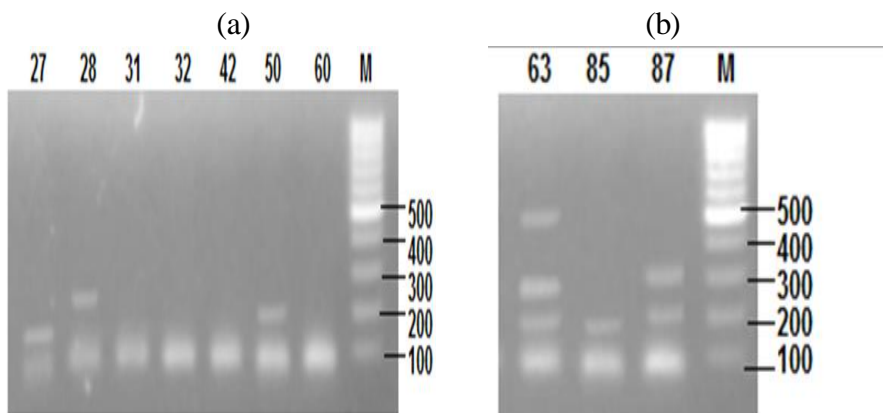
Hasil polimorfisme alel yang beranekaragam dari MSP-1 diidentifikasi pada isolat *P. falciparum* dari suatu daerah pegunungan dan daerah pantai di Sumatera Barat, Indonesia, dan kebanyakan infeksi ditemukan berupa infeksi campuran. Analisa urutan MSP-1 blok 2 mengungkapkan bahwa teridentifikasi 16 alel berbeda untuk MSP-1 (3 untuk tipe K1, 2 untuk tipe MAD20 dan 2 untuk tipe RO33), ditemukan masing – masing alel yang berbeda K1, MAD20 dan RO33.

Penelitian yang berbeda juga dilakukan oleh Salem *et al.*, (2011), mengemukakan bahwa MSP-1 merupakan salah satu kandidat yang dapat digunakan sebagai vaksin terhadap malaria. Faktor lain yang menyebabkan MSP-1 digunakan sebagai deteksi diversitas terhadap infeksi malaria adalah MSP-1 dapat mengekspresikan atau digunakan untuk menginvestigasi *Plasmodium* pada daerah geografis yang berbeda dan telah digunakan di berbagai belahan dunia. Pada hasil penelitian ini belum ditemukan isolate *P. falciparum* yang telah diisolasi baik pada masyarakat tertutup maupun masyarakat terbuka. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa *isolate P. falciparum* di daerah Kabupaten Buru Selatan memiliki keragaman anatara masyarakat tertutup dan terbuka dibandingkan dengan *P. falciparum* di daerah lain.

Penelitian lebih lanjut dibutuhkan untuk mengetahui diversitas *P. falciparum* yang menginfeksi pada masyarakat tertutup maupun masyarakat terbuka di Kabupaten Buru Selatan.

J. Analisis Polimorfisme Genetika PfMSP-1 pada Masyarakat Tertutup dan Terbuka

Sebanyak 10 sampel positif malaria *P. falciparum* yang terdiri dari 7 sampel berasal dari masyarakat tertutup sedangkan 3 sampel dari masyarakat terbuka. Hasil yang diperoleh dengan metode *single step* PCR dilanjutkan dengan deteksi gen MSP-1 alel K1, MAD20 dan RO33 dengan menggunakan *nested* PCR untuk mengetahui polimorfisme genetika PfMSP-1 pada dua kelompok. Hasil pemeriksaan polimorfisme genetika PfMSP-1 alel K1, MAD20 dan RO33 dengan menggunakan metode *nested* PCR tercantum pada Gambar 7.1 berikut ini:



Gambar 7.1 Polimorfisme PfMSP-1 alel K1 pada (a) Masyarakat Tertutup dan (b) Masyarakat Terbuka menggunakan Primer K1a dan K1b dengan metode *nested* PCR. Keterangan : M: Marker ladder 100 bp (Invitrogen, 100 bp)

Polimorfisme Alel K1 ditemukan pada (a) masyarakat tertutup ditemukan sampel nomor; bahwa sampel 27, 28 dengan ukuran pita 100, 200 bp dan sampel nomor; 50 berukuran 100 dan 300 bp adalah dimorfik. Sedangkan sampel nomor; 31, 42 dan 60 dengan ukuran pita 100 bp adalah monomorfik. (b) pada masyarakat terbuka, ditunjukkan pada sampel nomor; 63 memiliki 4 pita berukuran 100, 200, 300 dan 500 bp adalah polimorfik dengan *multiple of infection (MOI)*, memiliki jumlah pita lebih dari 3. Sedangkan sampel dengan nomor; 87 memiliki 3 pita berukuran 100, 200 dan 300 bp artinya polimorfik, dan hanya ada satu sampel dengan nomor ; 85 dengan pita berukuran 100 bp (monomorfik) seperti terlihat pada Tabel 7.8 berikut ini :

Tabel 7.8 Polimorfisme Alel K1

Masyarakat Tertutup			Masyarakat Terbuka		
No. Sampel	Jumlah Pita	Panjang Pita (bp)	No. Sampel	Jumlah Pita	Panjang Pita (bp)
27	2	100, 200,	63	3	100, 200, 300
28	2	100, 300	85	2	100, 200
31	1	100	87	2	100, 200, 300
42	1	100			
50	2	100, 200			
60	1	100			

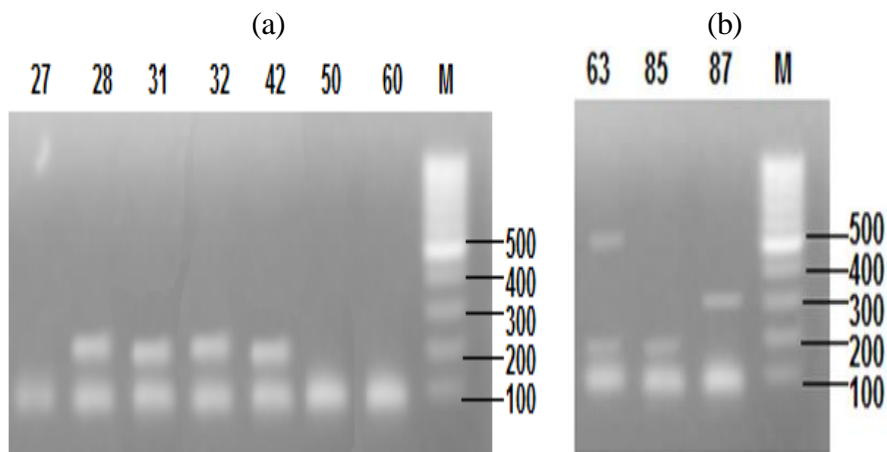
Keterangan :

1. Pita : Monomorfik
2. pita : Dimorfik
3. pita atau lebih : Polimorfik

Hasil analisis polimorfisme genetika PfMSP-1 alel K1 menunjukkan bahwa pada masyarakat tertutup dengan sampel nomor 31, 32, 42 dan 60 terdapat satu pita berukuran 100 bp adalah monomorfik yang berarti bahwa infeksi dengan satu genotipe. Hal ini berarti bahwa tidak ada mutasi yang terjadi atau secara genetika hanya terdapat satu infeksi. Sampel nomor 27, 28, dan 50 terdapat dua pita berukuran 100, 200 bp adalah dimorfik, diartikan sebagai infeksi dengan dua genotipe.

Pada masyarakat terbuka dengan sampel nomor 85, adalah monomorfik yang berarti bahwa infeksi dengan satu genotipe parasit. Sedangkan sampel nomor 63 dan 87 adalah polimorfisme yang berarti bahwa terjadi infeksi lebih dari dua genotipe parasit (*multiple of infection*) dengan ukuran pita menunjukkan tiga pita dengan ukuran 100, 200 dan 300 bp yang berarti bahwa secara genetika ada mutasi.

Analisis polimorfisme PfMSP-1 alel MAD20 pada masyarakat tertutup dan terbuka



Gambar 7.2 Polimorfisme PfMSP-1 alel MAD20 pada (a) Masyarakat Tertutup dan (b) Masyarakat Terbuka menggunakan Primer MAD20 a dan MAD20 b dengan metode *nested* PCR.

Keterangan: M: Marker ladder 100 bp (Invitrogen, 100 bp)

Pada gambar di atas menunjukkan bahwa pada masyarakat tertutup (a) dengan sampel nomor; 28, 31, 32, dan 42 memiliki pita berukuran 100, 200 bp yang artinya dimorfik dan Sampel nomor; 27, 50, 60 adalah monomorfik. Sedangkan sampel pada (b) masyarakat tertutup nomor 63 dengan ukuran pita 100, 200, dan 500 bp adalah polimorfik. Sampel nomor ; 87 dengan pita berukuran 100, 300 bp dan sampel nomor; 85 dengan ukuran pita 100, 200 bp adalah dimorfik, selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 5.7 berikut ini

Tabel 7.9 Polimorfisme Alel MAD20

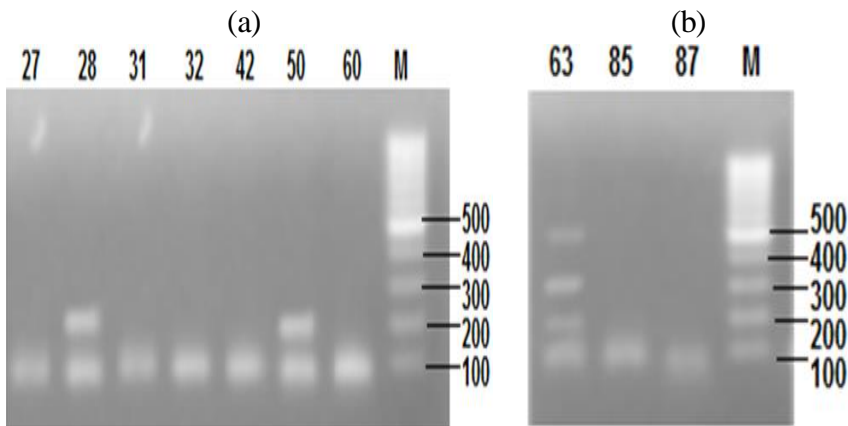
Masyarakat Tertutup			Masyarakat Terbuka		
No. Sampel	Jumlah Pita	Panjang Pita (bp)	No. Sampel	Jumlah Pita	Panjang Pita (bp)
27	1	100	63	3	100, 200, 500
28	2	100, 200	85	2	100, 200
31	2	100, 200	87	3	100, 300
32	2	100, 200			
42	2	100, 200			
50	1	100			
60	1	100			

Keterangan :

1. Pita : Monomorfik
2. pita : Dimorfik
3. pita atau lebih : Polimorfik

Hasil analisis polimorfisme PfMSP-1 alel MAD20 menunjukkan bahwa pada masyarakat tertutup dengan sampel nomor 27, 50 dan 60 adalah monomorfik yang berarti bahwa infeksi dengan satu genotipe. Hal ini berarti bahwa tidak ada mutasi yang terjadi atau secara genetika hanya terdapat satu infeksi ditunjukkan dengan pita yang berukuran 100 bp. Pada sampel nomor, 28, 31, 32, dan 42 adalah dimorfik artinya terdapat dua infeksi dengan dua *genotipe* parasit ditunjukkan oleh dua pita berukuran 100 dan 200 bp. Demikian juga dengan sampel pada masyarakat terbuka nomor 85 dan 87 adalah dimorfik dengan pita berukuran 100, 200 bp. Sedangkan sampel nomor 63 adalah polimorfisme, yang berarti bahwa terjadi infeksi lebih dari dua genotipe (*multiple infection*) dengan ukuran pita menunjukkan tiga pita dengan ukuran 100, 300 dan 500 bp yang berarti bahwa secara genetika ada mutasi.

Analisis polimorfisme PfMSP-1 alel RO33 pada masyarakat tertutup dan terbuka



Gambar 7.3 Polimorfisme PfMSP-1 alel RO33 pada (a) Masyarakat Tertutup dan (b) Masyarakat

Terbuka menggunakan Primer RO33a dan RO33b dengan metode *nested* PCR. Keterangan: M: Marker ladder 100 bp (Invitrogen, 100 bp)

Sampel pada masyarakat tertutup (a) menunjukkan bahwa nomor sampel 27, 31, 32, 42 dan 60 adalah monomorfik, dengan panjang pita berukuran 100 bp. Sampel nomor 28 dan 60 adalah dimorfik dengan pita berukuran 100 dan 200 bp sedangkan pada masyarakat terbuka (b) dengan nomor sampel ; 63 memiliki ukuran pita 100, 200, 300, 500 bp adalah polimorfik dengan ukuran pita lebih dari 3 pita *Multi Of Infection* (MOI). Sampel dengan nomor; 85 dan 87 hanya memiliki satu pita berukuran 100 bp menunjukkan monomorfik, terlihat pada Tabel 7.10 berikut :

Tabel 7.10 Polimorfisme Alel RO33

Masyarakat Tertutup			Masyarakat Terbuka		
No. Sampel	Jumlah Pita	Panjang Pita (base pair)	No. Sampel	Jumlah Pita	Panjang Pita (base pair)
27	1	100	63	4	100, 200, 300, 500
28	2	100, 200	85	1	100
31	1	100	87	1	100
32	1	100			
42	1	100			
50	2	100, 200			
60	1	100			

Keterangan :

1. Pita : Monomorfik
2. pita : Dimorfik
3. pita atau lebih : Polimorfik

Hasil analisis polimorfisme PfMSP-1 alel RO33 menunjukkan bahwa pada masyarakat tertutup sampel nomor 27, 31, 32, 42, dan 60 adalah monomorfik yang berarti bahwa infeksi dengan satu genotipe. Hal ini berarti bahwa tidak ada mutasi yang terjadi atau secara genetika hanya terdapat satu infeksi dengan satu genotipe ditunjukkan dengan pita yang berukuran 100 bp. Sampel nomor, 28, 50 adalah dimorfik diartikan sebagai infeksi dengan dua genotipe, ditunjukkan oleh dua pita berukuran 100 dan 200 bp. Secara genetika terdapat mutasi secara genetika terdapat dua infeksi. Demikian juga dengan sampel pada masyarakat terbuka nomor 85 dan 87 adalah dimorfik dengan pita berukuran 100, 200 bp. Sedangkan sampel nomor 63 adalah polimorfisme yang berarti bahwa terjadi infeksi lebih dari dua genotipe genotipe (*multiple infection*) dengan ukuran pita menunjukkan tiga pita dengan ukuran 100, 300 dan 500 bp menunjukkan bahwa terjadi mutasi genetika dan terdapat tiga infeksi.

K. Analisis Faktor yang Berpengaruh terhadap Polimorfisme

Untuk menganalisis faktor riwayat berpergian, riwayat sakit malaria, riwayat pengobatan, dan pembesaran limpa secara simultan dengan hasil pemeriksaan PCR, maka dilakukan analisis pengaruh seara bersama-sama semua variabel tersebut yang memenuhi syarat untuk dilakukan analisis regresi logistik secara bersama sama. Hasil analisis akhir hubungan disajikan pada tabel berikut:

Tabel 7.11 Analisis Faktor yang Berpengaruh terhadap Malaria *P. Falciparum* Berdasarkan PCR

B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
---	------	------	----	------	--------

Pembesaran Limpa	1.774	.781	5.155	1	.023	5.893
Konstanta	-.793	1.409	.317	1	.574	.453

Berdasarkan hasil analisis regresi logistik di atas dapat disimpulkan bahwa pembesaran limpa merupakan determinan kejadian malaria berdasarkan pemeriksaan PCR.

J. Temuan Baru

Penelitian ini telah menghasilkan beberapa temuan baru khususnya penelitian dibidang epidemiologi genetika dan biologi molekuler yaitu Pada penelitian ini ditemukan genetika PfMSP-1 parasit malaria khususnya polimorfisme alel K1, Mad20 dan R033 ditemukan pada masyarakat terbuka dengan umur <15 tahun yang mengalami polimorfisme alel K1, MAD20 dan RO33 dengan infeksi lebih dari dua genotipe dan ditemukan polimorfisme pada usia 25 tahun yang mengalami infeksi lebih dari tiga genotipe.

Pada masyarakat tertutup tidak ditemukan polimorfisme, karena memiliki satu sampai dua infeksi dari satu dan dua genotipe, namun ditemukan responden yang tidak sakit malaria teridentifikasi positif *P.falciparum*. pada masyarakat tertutup memiliki sistem imun yang baik karena belum terpapar dengan tekanan program pemerintah dan tekanan lingkungan sehingga parasit tidak perlu melawan tuan rumah (hospes) Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa parasit malaria pada masyarakat tertutup dan terbuka yang merupakan daerah kepulauan di Provinsi Maluku memiliki karakter yang spesifik dibandingkan dengan parasit di daerah lain di Indonesia maupun di dunia.

Hal ini disebabkan masih banyaknya populasi yang belum terpapar oleh resistensi terhadap obat dan banyaknya pulau yang masih terisolasi. Mengingat Penelitian tentang PfMSP-1 sebagai calon vaksin malaria, maka diharapkan sebagai dasar dari temuan ini sebagai informasi yang penting dalam pengembangan vaksin lokal yang berbasis kepulauan, karna tiap daerah kepulauan di Maluku memiliki karakteristik yang berbeda satu pulau dengan pulau lainnya. Berdasarkan pada penemuan PfMSP-1 yang dilakukan di belahan dunia juga menemukan perbedaan berdasarkan letak geografis

Namun disisi lain, ada beberapa keterbatasan dalam temuan ini yang dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian tentang polimorfisme genetika *P. falciparum* *Merozoit Surface Protein-1* dengan rincian sebagai berikut:

1. Penelitian ini hanya berorientasi pada polimorfisme genetika PfMSP-1 alel K1, MAD20 dan RO33 pada masyarakat tertutup dan masyarakat terbuka. Agar bisa diketahui perubahan polimorfisme genetika PfMSP-1 maka, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengungkapkan terjadinya perubahan dengan faktor-faktor lain yang memiliki pengaruh terhadap polimorfisme.
2. Penelitian tentang polimorfisme genetika PfMSP-1 belum pernah dilakukan di provinsi maluku, serta belum adanya isolat dari *genotyping* berbasis kepulauan yang menyebabkan belum ada marker atau kontrol positif sebagai pembanding untuk mendapatkan hasil pemeriksaan yang lebih baik dari hasil inokulasi parasit yang berbasis kepulauan di Provinsi maluku.

BAB 8

PENATALAKSANAAN MALARIA

Malaria adalah penyakit yang disebarkan melalui gigitan nyamuk. Tidak semua nyamuk bisa menyebabkan malaria, melainkan hanya nyamuk anopheles betina yang sudah terinfeksi parasit bernama plasmodium yang bisa menginfeksi manusia. Penyakit ini sering ditemukan di negara beriklim tropis seperti Indonesia. Jika tidak ditangani dengan tepat, penyakit ini bisa mengancam nyawa.

Oleh karena itu, pengobatan malaria harus dilakukan sedini mungkin dan dengan tepat. Tiap negara mempunyai standar pengobatan untuk penderita malaria dengan tujuan mematikan parasit plasmodium.

A. Pengobatan

Pengobatan penyakit malaria yang tidak diiringi dengan komplikasi penyakit lain, disarankan memberikan ACT (*artemisin-based combination therapies*) oral. Ketika seseorang didiagnosa positif malaria, segera diberikan

obat dan wajib diminum agar tidak mengalami resistensi obat malaria. Obat diminum setelah makan (pada saat perut kosong dilarang untuk minum obat malaria).

Departemen Kesehatan (2017) telah menetapkan pengobatan malaria berdasarkan jenis parasit, gejala dan usia penderita.

1. Malaria falsiparum dan Malaria vivaks

Pengobatan malaria falsiparum dan vivaks saat ini menggunakan ACT ditambah primakuin. Dosis ACT untuk malaria falsiparum sama dengan malaria vivaks, Primakuin untuk malaria falsiparum hanya diberikan pada hari pertama saja dengan dosis 0,25 mg/kgBB, dan untuk malaria vivaks. selama 14 hari dengan dosis 0,25 mg /kgBB. Primakuin tidak boleh diberikan pada bayi usia < 6 bulan.

2. Pengobatan malaria vivaks yang relaps

Pengobatan kasus malaria vivaks relaps (kambuh) diberikan dengan regimen ACT yang sama tapi dosis Primakuin ditingkatkan menjadi 0,5 mg/kgBB/hari.

3. Pengobatan malaria ovale

Pengobatan malaria ovale saat ini menggunakan ACT yaitu DHP ditambah dengan Primakuin selama 14 hari. Dosis pemberian obatnya sama dengan untuk malaria vivaks.

4. Pengobatan malaria malariae

Pengobatan P. malariae cukup diberikan ACT 1 kali perhari selama 3 hari, dengan dosis sama dengan pengobatan malaria lainnya dan tidak diberikan primakuin.

5. Pengobatan infeksi campur P. Falciparum + P. vivax/P.ovale

Pada penderita dengan infeksi campur diberikan ACT selama 3 hari serta primakuin dengan dosis 0,25 mg/kgBB/hari selama 14 hari.

B. Komplikasi

Pada kasus malaria berat dapat terjadi komplikasi yang seperti: gagal nafas, ARDS (*adult Respiratory Distress Syndrome*), gagal ginjal akut dan edema paru bahkan kematian.

C. Pencegahan Malaria

Melihat prognosis malaria yang dapat mengakibatkan kematian, maka penyakit ini dapat dicegah dengan melihat masuknya parasit ke dalam tubuh manusia. Oleh karena timbulnya penyakit malaria melalui gigitan nyamuk, maka perlu perlindungan terhadap gigitan nyamuk dengan cara:

1. Menggunakan pelindung, pakaian yang panjang.
2. Hindari berpergian atau berada di daerah endemis malaria
3. Pada saat tidur malam hari/siang hari gunakan kelambu
4. Membersihkan lingkungan dan membebaskan dari sarang nyamuk dengan cara 3M. **Menguras** bak mandi setiap minggu. **Menutup** air yang terbuka/tergenang. **Menabur** desinfektan untuk membunuh jentik nyamuk.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, O. R., Norahmad, N. A., Jelip, J., Sulaiman, L. H., Sidek, H. M., Ismail, Z. (2013). High Prevalence of Mutation in The Plasmodium Falciparum dhfr and dhps Genes in Field Isolates from Sabah, Northen Borneo. *Malaria Journal*, 1 - 8.
- Achmadi, U. (2005). *Manajemen Penyakit Berbasis Wilayah*. Jakarta: Buku Kompas.
- Achmadi, U. (2011). *Dasar-dasar Penyakit Berbasis Lingkungan*. Jakarta: Rajawali Press.
- Arsunan, A (2012). *Malaria di Indonesia Tinjauan Aspek Epidemiologi Makassar*: Masagena Press
- Auboy, A., Nabias, F. M., and Deloron, P. (2003). Polymorphism in Two Merozoite Surface Protein of Plasmodium Falciparum Isolates from Gabon. *Malaria Journal*, 1 - 6.

- Bastiaens, G. J., Schaftenaar, E., Ndaro, A., Keuter, M., & Bousema, T. (2011). Malaria Diagnostic Testing and Treatment Practices in Three Different Plasmodium Falciparum Transmission Setting in Tanzania; before and after Government Policy Change. *Malaria Journal*.
- Basu, T., Ganguly, S., Sarkar, S., and Arnab, R. (1998). Analysis of Survey Data Investigating the Malaria Endemicity of a Mixed Tribal Population of Bihar, India. *Questio O*, 365 - 378.
- Branch, O. H., Sutton, P. L., Barnes, C., Carlos, J., Castro, HUssin, J.,. (2006). Plasmodim Falcifarum Genetic Diversity Maintained and Amplified Over 5 Years of a Low Transmission Endemic in The Peruvian Amazon. *Molekul Biology*, 1 - 6.
- Cano Jorge 1, 2. P. (2007). Transmission of malaria and genotypic variability of Plasmodium falciparum on the Island of Annobon (Equatorial Guinea). *Malaria Journal* , 1-8.
- CDC-NTT. (2005). *Situasi Malaria di Propinsi Nusa Tenggara Timur, Kupang, NTT*. Nusa Tenggara Timur: Dinkes NTT.
- Centre of Disease Control and Prevention (CDC, 2015).
<http://www.cdc.gov/Malaria/about/biology/>
- Christian W. Kauth Ute Woehlbier, Michaela Kern, Zeleke Mekonnen, Rolf Lutz, Norbert Mu ¨cke, Jo ¨rg Langowski, and Hermann Bujard, Interactions between Merozoite Surface Proteins 1, 6, and 7 of the Malaria Parasite Plasmodium falciparum
- Cockburn, I. A., Mackinnon, M. J., O'Donnell, A., Stephen J. Allen, J. M., Baisor, M., Bockarie, M., (2004). A Human Complement Receptor 1 Plymorphism that reduces Plasmodium Falciparum Rosetting Confers Protection Against Severe Malaria. *PNAS*, 272 - 277.
- Dachlan, Y.P (2010). *Malaria, EPidemiology Genetic and Human Movement*. Purwokerto: Universitas Soedirman Purwokerto.

- Depkes RI, 2003, *Dinamika Penularan Malaria*, Sub Direktorat Malaria, Ditjen PPM dan PL, Jakarta
- Departemen Kesehatan R.I, 1999, *Modul, Manajemen Pemberantasan Penyakit Malaria*, Ditjen PPM dan PLP, Jakarta
- Departemen Kesehatan R.I, 2007, *Riset Kesehatan Daerah (Riskesdas 2007)* , Jakarta
- Departemen Kesehatan R.I. 2006. *Pedoman Pemberantasan Vektor*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pemberantasan Penyakit Menular dan Penyehatan Lingkungan Pemukiman, Jakarta.
- Departemen Kesehatan R.I. 2007. *Ekologi dan aspek perilaku vektor*, Direktorat Jenderal Pemberantasan Penyakit Menular dan Penyehatan Lingkungan Pemukiman, Jakarta.
- Ester, Ridwan M. Thaha, Hasanuddin Ishak, (2011) Perilaku Etnis Papua Mengenai Penyakit Malaria Di Kabupaten Nabire Papua*
- Fatchiyah., Estri L.A., Sri.W., Sri.R (2012). *Biologi Molekuler, Prinsip Dasar Analisis : Erlangga*
- Ferreira Marcelo U.,W. (2002). Sequence diversity and evolution of the malaria vaccine candidate merozoite surface protein-1 (MSP-1) of *Plasmodium falciparum*. *GENE* , 65-75.
- Graells, N. R., Gupta, A. P., Planet, E., Crowley, V. M., Mok, S., Pouplana, L. R., (2012). Transcriptional Variation in The Malaria Parasite *Plasmodium Falciparum*. *Genome Res*, 925 - 938.
- Gosil Panita, C. A. (2013). Evaluation of parasite subpopulations and genetic diversity of the *msp1*, *msp2* and *glurp* genes during and following artesunate monotherapy treatment of *Plasmodium falciparum* malaria in Western Cambodia. *Malaria Journal* , 1-13.
- Graeme J. M. Cowan1, A. M. (2011). A Malaria Vaccine Based on the Polymorphic Block 2 Region of MSP-1 that Elicits a Broad Serotype-Spanning Immune Response. *PLos One* , 1-14.

- Harijanto, P. (2000). *Malaria, Patogenesis, Manifestasi Klinis dan Penanganan*. Jakarta: EGC.
- Harijanto, P. (2000). *Malaria; Epidemiologi, Patogenesis, Manifestasi Klinis dan Penanganan*. Jakarta: EGC.
- Holder, A.A B. M. (2005). What is the Function of MSP-1 on the Malaria Merozoit? *Focus* , 1-3. [http//Id.wikipedia.org/wiki/Polimorfisme_\(biologi\)](http://Id.wikipedia.org/wiki/Polimorfisme_(biologi))
- Indonesia, D. K. (2003). *Modul Manajemen Program Pemberantasan Malaria*. Jakarta: Depkes RI.
- Indonesia, D. K. (2007). *Pedoman Teknis Pemeriksaan Parasit Malaria*. Jakarta: Depkes RI.
- Indonesia, D. K. (2008). *Gebrak Malaria, Pedoman Penatalaksanaan Kasus Malaria di Indonesia*. Jakarta: Depkes RI.
- Indonesia, D. K. (2009). *Pedoman Penatalaksanaan Manajemen Malaria di Indonesia*. Jakarta: Depkes RI.
- Irawati N, 2011 Genetic polymorphism of merozoite surface protein-1 (MSP-1) block 2 allelic types in *Plasmodium falciparum* fi eld isolates from mountain and coastal area in West Sumatera, Indonesia. *Med J Indones* Vol. 20, No. 1, February 2011
- Jamsari, 2007 Bioteknologi Pemula Prinsip Dasar dan Aplikasi Analisis Molekuler. Pekanbaru: UNRI Press
- Kartasasmita (1997) Karakteristik dan Struktur Masyarakat Modern disampaikan pada uji sahih penyusunan GBHN 1998 di Jogjakarta, 29 Juni 1997
- Kemeterian Kesehatan Republik Indonesia .(2017). Buku Saku Penatalaksanaan Kasus Malaria. Ditjen Pencegahan danPengendalian Penyakit Kementerian Kesehatan RI.
- Khattak, A. A., Venkatesan, M., Jacob, C. G., Artimovich, E. M., Nadeem, M. F., Nighat, F., 2013. A Comprehensive Survey pf Polymorphisms Conferring Anti-Malarial Resistance in

- Plasmodium Falciparum Across Pakistan. *Malaria Journal*, 1 - 9.
- Kirk K. Membrane Transport in the Malaria Infected Erythrocyte. *Physiol. Rev.* 2001; 81: 495-537
- Kisworo, B. (1993). *Diagnosis Parasitologi Malaria di Puskesmas*. Jakarta: Medika.
- Kiwanuka, N. G. (2009). Genetic diversity in Plasmodium falciparum merozoite surface protein 1 and 2 coding genes and its implications in malaria epidemiology: a review of published studies from 1997–2007. *J VECTOR BORNE DIS* , 1-12.
- Kuesap J.W.C. (2014). Evolution of Genetic Polymorphisms of Plasmodium Merozoit Surface Protein (PfMSP) in Thailand . *Korean J Parasitol* , 105-109.
- Kuntoro. (2009). *Dasar Filosofis Metodologi Penelitian*. Surabaya: Pustaka Melati.
- Kuntoro. (2009). *Metode Sampling dan Penentuan Besar Sampel*. Surabaya: Pustaka Melati.
- Kuesap Jiraporn, W. C. (2014). Evolution of Genetic Polymorphisms of Plasmodium Merozoit Surface Protein (PfMSP) in Thailand . *Korean J Parasitol* , 105-109.
- .Daniel. I Harti,S.K. (2002). The paradoxical population genetics of Plasmodium falciparum. *TREND In Parasitology* , 266-271.
- L, J. A., Thiemer, K., Khan, W. A., Jr, D. J., Noedl, H., & Haque, R. (2012). Genotyping of Plasmodium Falciparum Using Antigenic Polymorphic Endemic Areas of Bangladesh. *Malaria Journal*, 1 - 6.
- Latuconsina (2007) Ritual Inisiasi Pataheri dan Pasuno, Suku Naulu Kabupaten Maluku Tengah
- Larranaga, N., Mejia, R. E., Hormaza, J. I., Montoya, A., Soto, A., & Fontecha, G. A. (2013). Genetic Structure of Plasmodium Falciparum Populations Across The Honduras-Nicaragua Border. *Malaria Journal*, 354 - 364.

- Limeshow, S., Hosmes, D., J, K., & SK, L. (1997). *Besar Sampel dalam Penelitian Kesehatan*. Jogjakarta: Gajah Mada University Press.
- Lokki, A. I., Jarvella, I., Israelsson, E., Maiga, B., Blomberg, M. T., Dolo, A., et al. (2011). Lactase Persistence Genotypes and Malaria Susceptibility in Fulani of Mali. *Malaria Journal*, 1 - 6.
- Mamillapall Anithai†1, 3. S. (2007). Polymorphism and epitope sharing between the alleles of merozoite surface protein-1 of Plasmodium falciparum among Indian isolates. *Malaria Journal* , 1-7.
- Moshal, J. F., Strurrock, H. J., Greenhouse, B., Greenwood, B., Sutheland, C. J., gadalla, N., et al. (2013). Epidemiology of Subpatent Plasmodium Falciparum Infection: Implications for Detection of Hotspots with Imperfect Diagnostics. *Malaria Journal*, 221 - 230.
- Mugenyi, C. K., Elliott, S. R., Callum, F. J., Anders, R. F., Marsh, K., & Beeson, J. G. (2013). Antibodies to Polymorphic Invasion-Inhibitory and non-Inhibitory Epitopes of Plasmodium Falciparum Apical Membrane Antigen 1 in Human Malaria. *Pols One*, 1 - 11.
- Mi-Jung Kang1, S.-U. M.-Y.-H.-M.-S. (2010). RGeeseanrcheti polymorphism of merozoite surface protein-1 and merozoite surface protein-2 in Plasmodium falciparum field isolates from Myanmar. *Malaria Journal* , 1-8.
- Moorthy Vasee S, M. F. (2004). Malaria vaccine developments. *Lancet* , 150-156.
- Ndoen, E., C, W., P, D., Neil, S., & D, M. (2011). Dusk to Dawn Activity Patterns of Anopheline Mosquitoes in West Timor and Java, Indonesia. *Griffith University, Australia*.
- Ndoen, E., Wild, C., Dale, P., N, S., & M, D. (2010). Situasi Malaria di Indonesia. *Malaria Journal*, 9 : 242.

- Ngo, D. T., Erhart, A., Hung, L. X., Thuan, L. K., Xa, N. X., Thanh, N. N., et al. (2009). Rapid Decrease of Malaria Morbidity Following The Introduction of Community-Based Monitoring in a Rural Area of Central, Hanoi Vietnam. *Malaria Journal*.
- Nikhoma, S. C., L, S. N., Cheeseman, I. H., Allegrini, C. R., Singlam, S., Nosten, F. (2012). Close Kinship within Multiple - Genotype Malaria Parasite Infections. *Biological Science*, 2589 - 2598.
- Norante Nitchakarn 1, F. P.-T.-F. (2009). Population diversity and antibody selective pressure to Plasmodium falciparum MSP1 block2 locus in an African malaria-endemic setting. *BMC Microbiology* , 1-25.
- Notoatmodjo, S. (2005). *Metode Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Notobroto H. B, Atik Choirul Hidajah (2009) Faktor Risiko Penularan Malaria Di Daerah Berbatasan J.Penelit. Med. Eksakta, Vol. 8, No. 2, Agust 2009: 143-151
- Pacheco, M. A., Cranfield, M., & Escalante, K. C. (2013). Geographical Structure of Diversity and Differences Between Symptomatic and Asymptomatic Infection for Plasmodium Falciparum Vaccine Candidate AMA1 . *Malaria Journal*, 324 - 348.
- Pisesa.F.A 2007 Identifikasi Variasi Sekuen Dan Analisis Hubungan Kekerabatan Gen Merozoite Surface Protein 1 (Msp-1) Plasmodium falciparum Isolat Kepulauan Mentawai
- Polley, S. D., Tetteh, K. K., Lloyd, J. M., Akpogheneta, O. J., Greenwood, B. M., Bojang, K. A. (2007). Plasmodium Falciparum Merozoite Surface Protein 3 is a Target of Allele-Specific Immunity and Alleles are Maintained by Natural Selection. *The Journal of Infectious Diseases*, 279 - 287.
- Postlethwait Angel Amores, Julian Catchen,† Allyse Ferrara, Quenton Fontenot, and John H. (2011)

- Genome Evolution and Meiotic Maps by Massively Parallel DNA Sequencing: Spotted Gar, an Outgroup for the Teleost Genome Duplication. *Genetics*, Vol. 188, 799–808 August 2011
- Richards, J. S., Donald, N. J., & Eisen, D. R. (2006). Limited Polymorphism in Plasmodium Falciparum OOkinete Surface Antigen, Von Willebrand Factor A Domain-Related Protein from Clinical Isolates. *Malaria Journal*, 1 - 6.
- Robert, V., Macintyre, K., Keating, J., Trape, J. F., Duchemin, J. B., Warren, M. W., et al. (2003). Malaria Transmission in Urban Sub - Saharan Africa. *American Journal Tropical Medicine*, 169 - 176.
- Salem Mohamed O Ahmedou SalemM. (2014). Polymorphism of the merozoite surface protein-1 block 2 region in Plasmodium falciparum isolates
- Scopel, K. K., Silva-Nunes, M. D., Malafronte, R. S., Braga, E. M., & Ferreira, M. U. (2007). Variant - Specific Antibodies to Merozoite Surface Protein 2 and Clinical Expression of Plasmodium Falciparum Malaria in Rural Amazonians. *American Journal Tropical Medicine*, 1084 - 1091.
- Simamora D, Loeki Enggar Fitri (2007) Resistensi Obat Malaria: Mekanisme Dan Peran Obat Kombinasi Obat Antimalaria Untuk Mencegah Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang from Mauritania. *Malaria Journal* , 1-8.
- Sillehu, S; HSW Nugroho, MT Umasugi; LD Saraswati; P. Ginanjar, (2018). Malaria in Open and Closeda Communities in Namrole, Buru Selatan District, Maluku Island, Indonesia. *Indian Journal of Public Health Research and Develepment (IJPHRD)* 9 (2). Pp 220-225
- Siwaliam New (2010) Suku Terasing di Pulau Buru
- Sillehu S; Hamka; Astuti T; Lukman L.B, Taufan U, Sunik. (2018). Persakmi. Vol 1 (1) pp. 214

- Soedarto, (2011) Malaria, Epidemiologi Global Plasmodium Anopheles Penatalaksanaan Penderita Malaria : Sagung Seto
- Stanisic, B. I., Richards, J. S., Callum, F. J., Michon, P., King, C. L., Schoepflin, S.(2009). Immunoglobulin G Subclass-specific Responded Against Plasmodium Falciparum Merozoite Antigens are Associated with Control of Parasitemia and Protection from Symptomatic Illness. *Infection Immun*, 1165 - 1174.
- Stubbs, J. S., Saidou, B., Simpoire, J., Corradin, G., & Lanzavecchia, A. (2011). Strain-Transcending Fc-Dependent Killing of Plasmodium Falciparum by Merozoite Surface Protein 2 Allel-Specific Human Antibodies. *Infection and Immunity*, 1143 - 1152.
- Sukowati, S. (2008). *Masalah Keanekaragaman Spesies Vektor Malaria dan Cara Pengendalian di Indonesia*. Jakarta: Badan Litbangkes.
- Susana, D. (2011). *Dinamika Penularan Malaria*. Jakarta: Press UI.
- Tanabe Kazuyukie, N. S.-I. (1999). A PCR Method for Molecular Epidemiology of Plasmodium falciparum Msp-1. *Molecular epidemiology of Msp-1* , 375-381.
- Tjitra, Erniana Hariyani A. Marwoto, Marvel Renny, Sahat Ornpusunggu dan Sekar Thiti (1991) Penelitian Obat Anti Malaria Bul. Penelit Kesehatan 19 (4) 1991
- Topolska, A.E., Wang, L., Black, C.G., Coppel, R.L., 2004. Merozoite cell biology. In: Waters, A.P., Jense, C.J. (Eds.), *Malaria Parasites: Genomes and Molecular Biology*. Caister Academic Press, Wymondham, pp. 365–444
- Verra, L. H. (2002). Extensive Polymorphism and ancient origin of Plasmodium falciparum. *TREND in Parasitology* , 348-351.
- VH, L., S, A., Dennis, A, D. S., & A, S. (1983). Diptera Culicidae Vektor Malaria dan Bancroftian

- Filariasis di Flores Island, Indonesia. *Journal Medicines*, 20; 577 - 8.
- Wagner, J. C., Goldfless, S. J., Suresh, M. G., Lee, M. C., & Niles, D. A. (2013). An Integrated Strategy for Efficient Vektor Construction and Multi-gene Expression in Plasmodium Falciparum. *Malaria Journal*, 1 - 13.
- Wangroongsarb, P., Sudathip, P., & Satimai, W. (2012). Characteristics and Malaria Prevalence of Migrant Populations in Malaria - Endemic Area Along the Thai-Cambodian Border. *Southeast Asian Journal Tropical Medicine Public Health*, 261 - 269.
- W. Danny Wilson¹, 2. F. (2011). Quantifying the Importance of MSP1-19 as a Target of Growth-Inhibitory and Protective Antibodies against Plasmodium falciparum in Humans Pascal Michon^{5,6}, Elija Dabod⁵, Peter M. Siba⁵, Ivo Mueller^{1,5,7}, Brendan S. Crabb^{2,3}, James G. Beeson^{1,3}. *PLoS One*, 1-14.
- Wiraman.P (2013) Indeks klinis epidemiologis Penemuan dini Kasus Malaria Bagi Kader Kesehatan di wilayah Kepulauan Provinsi nusa Tenggara Timur. Disertasi Universitas Airlangga Surabaya
- Wahib M Atroosh¹, H. M.-M.-A. (2011). Genetic diversity of Plasmodium falciparum isolate from pahang, Malaysia based on msp-1 and msp-2 genes. *BioMed Central*, 1-9.
- World Health Organization (2013) The World Malaria Report
- Yudhastuti, R. (2011). *Perumusan Indeks Lingkungan Fisik untuk Prediksi Peningkatan Kasus Malaria; Studi Kasus Malaria di Kabupaten Pacitan*. Surabaya: Universitas Airlangga.

DAFTAR INDEKS

A

Acid, 22
 ACT, 65, 72, 118, 137, 138, 139
 adaptasi, 6
 agen, 5
agent, 5
 aktif, 8, 17, 68
 alel, 4, 35, 40, 41, 42, 43, 46, 47,
 49, 62, 63, 66, 68, 70, 71, 90,
 94, 95, 96, 97, 108, 111, 112,
 114, 119, 120, 121, 122, 123,
 124, 126, 128, 129, 130, 131,
 133, 134, 136
 Alel, 122, 123, 127, 130, 132
 analisis, 66, 73, 96, 97, 100, 102,
 109, 111, 113, 116, 121, 128,
 130, 133, 134
 anemia, 9, 29, 30, 56
Annual, 2, 10
 anopheles, 137
Anopheles, 7, 8, 12, 17, 18, 24,
 101
 anti, 3, 12, 17, 35, 45, 57, 63, 65,
 71, 72, 73, 75, 77, 99, 124
 antibodi, 20, 34, 36, 37, 39, 110

API, 2, 10, 11

B

basofil, 14
behavior, 6, 49
 berakibat, 9
 berpergian, 4, 71, 72, 74, 75, 77,
 78, 108, 113, 133, 140
 bikonkaf, 13
 biskoid, 13
blood, 78, 79, 83, 103, 106
Blood, 2, 15, 78, 83

C

Cell, 15
 cincin, 13, 24, 26, 38, 105
confounding, 100
conserve, 40, 41, 92, 121
cytokeleton, 14
cytostomes, 14

D

daerah, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 11,
 19, 20, 30, 32, 34, 35, 39, 42,

43, 44, 45, 47, 48, 49, 52, 53,
55, 58, 60, 61, 63, 66, 68, 70,
71, 72, 73, 74, 75, 77, 93, 94,
95, 98, 99, 103, 104, 108, 109,
110, 111, 114, 116, 119, 121,
122, 124, 125, 135
darah, 8, 12, 13, 17, 18, 19, 20,
21, 22, 24, 26, 27, 28, 29, 30,
32, 35, 39, 46, 48, 54, 55, 56,
64, 70, 76, 77, 78, 79, 81, 82,
103, 104, 106, 107, 114
degistive, 14
demam, 19, 29, 32, 35, 42, 44, 46,
55, 56, 75, 99, 112, 115, 116
deteksi, 33, 79, 85, 86, 91, 94,
105, 107, 121, 125, 126
Development, 9
diagnosis, 19, 20, 32, 57, 64, 80,
103, 104, 106, 107
dimorfik, 40, 96, 97, 121, 122,
123, 127, 128, 129, 130, 132,
133
Dimorfrik, 127, 130, 132
dinamik, 5
dinamika, 7
ditularkan, 7, 8
diversitas, 36, 66, 90, 121, 124,
125
DNA, 12, 15, 22, 41, 69, 78, 79,
83, 86, 88, 92, 103, 106, 107
dorman, 8, 13
dosis, 138, 139

E

efektif, 36, 53, 106
ekologi, 5, 62
eksoeritrositik, 12
ekspresi, 38
enabling, 118
endemik, 3, 30, 63, 66, 98
endemis, 2, 4, 5, 10, 11, 32, 45,
53, 55, 60, 64, 70, 94, 95, 109,
110, 114, 116, 122, 124, 140
endemisitas, 10, 44, 45, 60, 66,
93, 119
Enzim, 21, 87

epidemiologi, 5, 20, 45, 48, 61,
62, 119, 134
eritrosit, 4, 7, 8, 13, 14, 15, 16,
17, 22, 26, 28, 29, 33, 34, 37,
38, 39, 70
evaluasi, 10
evolusi, 4, 5, 6
Exact, 97, 100, 102, 109, 113,
115, 120

F

faktor, 3, 35, 57, 62, 70, 72, 97,
98, 99, 102, 109, 113, 115,
118, 120, 133, 136
falciparum, 4, 6, 7, 8, 13, 15, 16,
17, 21, 24, 25, 26, 27, 28, 29,
30, 31, 33, 34, 36, 38, 42, 43,
44, 45, 46, 47, 48, 53, 54, 56,
58, 62, 63, 66, 73, 78, 81, 82,
83, 85, 86, 88, 89, 90, 94, 95,
96, 97, 99, 100, 101, 102, 104,
105, 106, 107, 108, 109, 112,
114, 115, 119, 120, 124, 125,
135, 136
falsiparum, 138
fatal, 9
Fisher's, 97, 100, 102, 109, 113,
115, 120
fluktuasi, 53, 111
formulasi, 10

G

gametosit, 8, 17, 18, 24, 26, 57
gejala, 17, 18, 30, 45, 54, 57, 73,
74, 75, 77, 79, 95, 97, 98, 110,
112, 115, 116, 138
genetika, 3, 4, 5, 6, 65, 66, 68, 90,
94, 95, 108, 111, 119, 121,
122, 124, 126, 128, 130, 133,
134, 136
genotipe, 4, 96, 97, 121, 122, 123,
128, 130, 133, 134, 135
genus, 7
geografis, 4, 46, 48, 58, 67, 124,
125, 135

giemsa, 14, 105
gigitan, 9, 18, 101, 137, 139
global, 1, 2, 9, 52, 65, 106
GMP, 10
Goals, 9
gold, 20, 94, 107

H

hemoglobin, 13, 14, 17
hipnosito, 8, 13
Homogen, 117
hospes, 5, 6, 12, 17, 35, 56, 135

I

imonokromatografi, 20
imun, 6, 28, 33, 34, 35, 55, 56, 62, 98, 135
imunoserologis, 19
Incidence, 2, 10
indegenus, 4, 111
indikator, 9, 11, 61, 119
infeksi, 1, 9, 13, 19, 24, 27, 29, 30, 36, 42, 43, 44, 45, 47, 49, 55, 56, 60, 62, 73, 81, 82, 87, 94, 96, 97, 98, 99, 104, 105, 106, 114, 119, 121, 122, 123, 124, 125, 128, 130, 133, 134, 135, 139
Infeksi, 8, 13, 24, 29, 98
Insiden, 9
interaksi, 5, 7
intervensi, 6, 11
invasi, 4, 13, 14, 33, 34, 37, 38
Invitrogen., 126, 129, 131
isolasi, 78, 79, 86, 103, 107
isolate, 125, 150

K

K1a, 91, 120, 121, 126
K1b, 91, 121, 126
kandidat, 4, 34, 36, 37, 38, 125
kasus, 1, 2, 9, 10, 11, 19, 43, 46, 49, 62, 138, 139
kekambuhan, 8, 58

keterpaparan, 101
khas, 19, 24, 74, 75, 95, 97, 112, 115, 116
KLB, 20, 103
knowlesi, 7
komplikasi, 24, 30, 43, 47, 137, 139
kontak, 6, 101
Kuantitatif, 21

L

laboratorium, 19, 20, 32, 57, 62, 64, 76, 77, 105, 107
leukosit, 22
limfe, 12
limpa, 27, 32, 58, 60, 61, 66, 71, 73, 77, 78, 119, 120, 133, 134
lokal, 135

M

MAD20, 4, 40, 42, 43, 47, 62, 66, 68, 71, 90, 91, 92, 94, 95, 96, 97, 108, 111, 112, 114, 119, 120, 121, 122, 124, 125, 126, 128, 129, 130, 134, 136
MAD20a, 91, 121
MAD20b, 91, 121
makrogamet, 18
malaria, 1, 2, 3, 4, 5, 8, 9, 10, 11, 12, 17, 18, 19, 20, 22, 24, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 35, 36, 37, 38, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 68, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 82, 88, 91, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 118, 119, 120, 124, 125, 133, 134, 135, 137, 138, 139, 140
malariae, 7, 16, 21, 55, 56, 139
maligna, 8
masyarakat terbuka, 3, 7, 52, 63, 64, 65, 66, 69, 71, 72, 75, 88,

89, 91, 94, 95, 96, 101, 106,
108, 109, 112, 113, 114, 118,
119, 121, 122, 123, 126, 127,
128, 131, 132, 133, 134, 136
MDGs, 9
menderita, 9, 54, 74, 75, 100, 102,
110, 112
menginfeksi, 8, 15, 29, 30, 56, 57,
63, 125, 137
merosoit, 4, 8, 33, 34, 37, 38
merozoit, 4, 8, 13, 15, 17, 27, 33,
34, 35, 36, 39
migrasi, 3, 45, 53, 63, 76, 77, 98,
110
mikrogamet, 18
mikroskopis, 11, 19, 20, 32, 48,
54, 64, 66, 73, 79, 80, 82, 88,
94, 100, 102, 103, 105, 106,
107, 110, 114
Millenium, 9
mobilitas, 3, 63, 76, 110, 111
model, 5, 52
MOI, 44, 45, 47, 53, 97, 122, 123,
127, 132
molekul, 13, 33, 34, 37, 38, 41
monitoring, 10
monomorfik, 97, 121, 122, 127,
128, 129, 130, 132, 133
Monomorfik, 127, 130, 132
morfologis, 24
MSP-1, 4, 33, 34, 35, 36, 37, 38,
39, 40, 42, 43, 46, 47, 48, 63,
90, 91, 92, 108, 121, 124, 125,
126
mutasi, 15, 36, 65, 69, 128, 130,
133
mutivariat, 97, 102, 109, 113, 116

N

nyamuk, 7, 9, 12, 17, 18, 24, 44,
101, 137, 139, 140

O

obat, 3, 17, 32, 57, 63, 64, 65, 71,
72, 73, 75, 76, 77, 78, 118,
124, 135, 137
ookinet, 18
Ookista, 18
oral, 118, 137
organel, 13, 14
ovale, 7, 13, 16, 21, 56, 58, 107,
138, 139

P

parasit, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 12, 13, 14,
15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22,
24, 27, 28, 29, 31, 33, 36, 37,
39, 40, 43, 44, 45, 46, 47, 48,
53, 54, 57, 58, 63, 64, 65, 70,
79, 82, 83, 85, 91, 94, 96, 97,
98, 102, 103, 105, 106, 114,
121, 122, 123, 128, 130, 134,
135, 136, 137, 138, 139
Parasit, 6, 7, 14, 37
Parasite, 2, 10, 21
patogen, 6
PCR, 20, 22, 49, 66, 73, 76, 78,
80, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89,
90, 91, 92, 94, 96, 97, 99, 100,
101, 102, 106, 107, 108, 109,
111, 112, 113, 114, 115, 119,
120, 123, 126, 129, 131, 133,
134, 149
pemeriksaan, 11, 19, 20, 22, 32,
48, 57, 58, 64, 66, 72, 73, 76,
81, 82, 86, 88, 95, 97, 100,
102, 103, 104, 105, 106, 107,
108, 109, 110, 111, 113, 114,
115, 119, 120, 122, 126, 133,
134, 136
pemukiman, 52, 101
pengobatan, 5, 6, 18, 57, 58, 60,
64, 65, 72, 95, 106, 114, 115,
116, 117, 118, 122, 124, 133,
137, 138, 139

penyakit, 1, 5, 9, 10, 19, 24, 31,
52, 55, 57, 58, 60, 62, 77, 98,
99, 111, 115, 117, 137, 139

peradaban, 3, 52

perifer, 18

perkotaan, 3, 52

persisten, 107

PfMSP-1, 4, 5, 6, 33, 34, 42, 43,
62, 65, 66, 68, 80, 90, 91, 94,
95, 96, 108, 111, 112, 114,
119, 120, 122, 124, 125, 126,
128, 129, 130, 131, 133, 134,
135, 136

pharositiphorous, 13

pita, 86, 88, 89, 92, 97, 121, 122,
123, 127, 128, 129, 130, 132,
133

Plasmodium, 4, 6, 7, 8, 12, 16, 17,
19, 20, 21, 22, 24, 26, 27, 29,
30, 33, 55, 57, 62, 64, 66, 71,
73, 80, 81, 82, 85, 86, 88, 94,
103, 104, 106, 107, 125

p-LDH, 21

Polimorfik, 121, 128, 130, 132

polimorfisme, 4, 5, 6, 35, 36, 37,
41, 42, 43, 46, 48, 62, 65, 66,
68, 69, 70, 72, 94, 95, 96, 97,
108, 111, 119, 121, 122, 123,
126, 128, 130, 131, 133, 134,
135, 136

potensi, 4

predisposing, 118

preeritrositik, 12

primakuin, 18, 107, 138, 139

primer, 86, 88, 90, 92, 94, 106,
121

probabilitas, 97, 100, 102, 109,
113, 115, 120

program, 1, 2, 6, 11, 46, 48, 65,
68, 95, 118, 122, 135

proses, 4, 5, 6, 27, 38, 83

protein, 4, 13, 14, 28, 33, 34, 35,
36, 37, 38, 39, 42, 63, 94

protein-1, 4, 94

protozoa, 7, 24

R

radiesthesi, 118

ramuan, 3, 57, 77, 117, 118

RBC, 15, 28

RDT, 19, 20, 32, 33, 64, 66, 73,
77, 79, 80, 81, 82, 88, 94, 100,
103, 104, 105, 110, 111, 114

Red, 15

reinforcing, 118

relaps, 8, 13, 54, 55, 138

rentan, 17, 98

replikasi, 12, 16, 99

representatif, 6

resistensi, 3, 57, 58, 64, 65, 70,
124, 135, 137

retikulosit, 7, 30

retina, 115

Ribonukleic, 22

ribosomal, 22, 85

ring, 13, 26, 105

risiko, 4, 9, 71, 99, 101, 102, 109,
110

RO33, 4, 42, 43, 47, 49, 62, 66,
68, 71, 90, 91, 92, 94, 95, 96,
97, 108, 111, 112, 114, 119,
120, 121, 122, 123, 124, 125,
126, 131, 132, 133, 134, 136

RO33a, 91, 121, 131

RO33b, 91, 121, 131

S

sampel, 19, 44, 46, 47, 48, 64, 71,
73, 76, 77, 78, 81, 86, 87, 88,
89, 96, 103, 104, 105, 106,
107, 122, 125, 127, 128, 129,
130, 132, 133

seeking, 6

sel, 8, 13, 18, 24, 27, 29, 30, 35,
39, 55, 56, 58

sembuh, 8, 9, 54

sensitif, 17, 22, 39

sensitifitas, 64, 82, 103

sequences, 22

siklus, 12, 13, 15, 16, 17, 33, 39,
54

sistem, 6, 52, 63, 70, 98, 135
sitoplasma, 15, 26, 27
 Skison, 8
slide, 48, 103
spesies, 7, 21, 22, 24, 27, 29, 57,
 58, 64, 73, 77, 80, 81, 82, 83,
 85, 86, 88, 89, 94, 103, 104,
 106, 107
spesifisitas, 82, 103
sporosoit, 8, 13, 55
SSrRNA, 22
stable, 53, 111
stadium, 4, 8, 13, 14, 16, 17, 18,
 21, 24, 26, 31, 32, 33, 34, 35,
 38, 54, 57, 82, 107
stimulasi, 17
strategi, 10, 43, 47
surface, 4, 28

T

tebal, 13, 21, 22, 78, 79, 82, 103,
 107
terbuka, 3, 5, 51, 52, 57, 62, 63,
 64, 66, 69, 70, 72, 76, 79, 81,
 90, 93, 94, 95, 99, 100, 102,
 103, 104, 107, 110, 113, 114,
 117, 119, 125, 128, 131, 135,
 140
tertular, 4, 9, 55, 101
tertutup, 3, 5, 6, 49, 50, 51, 62,
 63, 64, 65, 66, 69, 70, 71, 72,
 74, 76, 77, 79, 81, 88, 89, 90,

91, 93, 94, 95, 96, 97, 99, 100,
 101, 102, 103, 104, 106, 107,
 108, 109, 110, 112, 113, 114,
 116, 117, 119, 121, 122, 125,
 126, 128, 129, 130, 131, 132,
 133, 135, 136
tes, 19, 20, 107
tetes, 21, 78, 79, 82, 103, 107
tradisional, 3, 6, 49, 51, 53, 57,
 65, 113, 115, 117, 118
trofosoit, 8, 21, 24
Trofozoit, 15
tropis, 1, 9, 137

U

unstable, 53, 111

V

vacuole, 13, 14
vaksin, 4, 35, 36, 37, 38, 62, 125,
 135
vakuola, 14, 38
vegetatif, 3, 6, 49, 122
vesikel, 14
virulen, 14
vivax, 7, 8, 13, 16, 21, 34, 38, 54,
 55, 56, 58, 70, 73, 81, 82, 85,
 86, 94, 104, 105, 106, 107,
 114, 139